

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mme BELABASSI Nassira

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

THÈME

EFFETS INHIBITEUR DE L'HUILE ESSENTIELLE VIS À VIS DES
BACTÉRIES RESPONSABLES DES INFECTIONS
BUCCODENTAIRES

Soutenue publiquement

DEVANT LE JURY

M. BAHRI F

Professeur

Président

M. TAHRI M

MCA

Examineur

MA. BEKADA

Professeur

Encadreur

Dédicaces

C'est grâce à dieu, tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

A mon très cher papa et ma très chère maman pour leurs sacrifices, leurs soutien moral, de leur tendresse, de leurs encouragements tout au long de mes études et durant ce mémoire, ils m'ont offert tout pour que je réussisse, je ne les remercierai jamais assez pour tout ce qu'ils m'ont fait, j'espère qu'ils sont fiers de moi.

A ma deuxième famille.

A mon marie Kader pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles.

A Mes collègues, pour leur présence de tous les instants, leur sympathie et leurs encouragements qu'ils m'ont apportée et pour les beaux souvenirs

Remerciements

Nous voudrions profiter cette occasion pour exprimer nos sincères remerciements et notre reconnaissance à:

Dieu, le tout puissant pour nous donner la force, la santé et la patience pour accomplir ce modeste travail.

Notre directeur de recherche, Dr BEKADA Ahmed, non seulement pour avoir pris soin de nous, mais surtout pour nous donner de précieux conseils, ainsi il nous a dirigé tout au long de la préparation du mémoire de master.

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance et notre sincère gratitude à tous les enseignants de la filière de biologie de l'université de Mostaganem, sans exceptions, pour les efforts qu'ils ont fournis durant ces cinq années de formation.

Nous exprimons nos vifs remerciements à toute l'équipe de laboratoire de Microbiologie pour leur aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nous tenons à exprimer également nos profondes reconnaissances à Abd Alhadi chirurgiens dentiste d'hôpital de sidi Mehmed ben Ali et l'ingénieur du Laboratoire Med Sabaa Youcef

Nous exprimons nos vifs remerciements à mes collègues de travail

Finalement, il nous est agréable d'adresser nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

L'infection buccodentaire persistante demeure parmi les problèmes incurables pour les chirurgiens-dentistes. L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'effet de l'huile essentielle extraite de plante médicinale *Salvia officinalis* sur certains germes responsables d'infections buccodentaires.

Les résultats obtenus montrent que les HE ont un important effet inhibiteur contre les microorganismes étudiés. En effet, les zones d'inhibition obtenues, varient entre 6 et 28,5 mm, indiquant que les deux souches ont des sensibilités différentes selon la concentration de l'HE. Par ailleurs, plus la concentration en HE augmente, plus l'inhibition devient importante pour les deux espèces bactériennes testées. Globalement on peut déduire que *Staphylococcus aureus*, une espèce à Gram (+) s'est montré plus sensible à l'action inhibitrice de cette huile essentielle.

On déduit à travers cette étude que les huiles essentielles sont plus efficaces que les produits chimiques utilisés pour la lutte contre les microorganismes responsables d'infections buccodentaires.

Mots clés : Infections buccodentaires, *Salvia officinalis*, Huiles essentielles *Staphylocoques*, *Escherichia coli*.

Abstract

Persistent oral infection remains among the incurable problems for dental surgeons. The aim of this study is to evaluate the effect of essential oil extracted from the medicinal plant *Salvia officinalis* on certain germs responsible for oral infections.

The results obtained show that the EOs have an important inhibiting effect against the microorganisms studied. Indeed, the zones of inhibition obtained vary between 6 and 28.5 mm, indicating that the two strains have different sensitivities according to the concentration of the EO. Moreover, the higher the concentration of EO, the greater the inhibition for the two bacterial species tested. Overall, we can deduce that *Staphylococcus aureus*, a Gram (+) species, was more sensitive to the inhibiting action of this essential oil.

Keywords: Oral infections, *Salvia officinalis*, *Staphylococcus* essential oils, *Escherichia coli*.

المخلص

لا تزال عدوى الفم المستمرة من بين المشاكل المستعصية لجراحي الأسنان. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الزيت العطري المستخرج من نبات المرامية الطبي على بعض الجراثيم المسؤولة عن التهابات الفم. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت العطرية لها تأثير مثبط هام ضد الكائنات الحية الدقيقة المدروسة. في الواقع ، تتراوح مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها بين 6 و 28.5 مم ، مما يشير إلى أن السلالتين لهما حساسيات مختلفة وفقاً لتركيز. الزيت العطري علاوة على ذلك، كلما زاد تركيز الزيت العطري، زاد تثبيط النوعين البكتيريين المختبرين. بشكل عام ، يمكننا أن نستنتج أن *Staphylococcus aureus* ، وهي نوع من أنواع الجرام (+) ، كانت أكثر حساسية للعمل المثبط لهذا الزيت العطري.

الكلمات المفتاحية: التهابات الفم ، المرامية ، زيوت المكورات العنقودية الأساسية ، الإشريكية القولونية.

Liste des abréviations

AFNOR : Agence Française de Normalisation

DMSO: Diméthylsulfoxyde

HE: Huile essentielle

MH : Muller Hinton

mm: Millimètre.

OMS : (Organisation Mondiale de la Santé)

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la methiciline

µl : microlitren

Liste des figures

Figure 01: Montage d'extraction par Hydro distillation	7
Figure 02 : Distillation à vapeur saturée.....	8
SFigure 03 : Photos à gauche d'une pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de <i>Citrus</i>	8
Figure04 : L'hydro diffusion	9
Figure 05 : Technique d'extraction par les corps gras	9
Figure 06 : Les différents types d'extraction par solvants volatils	10
Figure 07: La sauge (origine 2021)	14
Figure 08: Aspect de la plante <i>Salvia officinalis</i>	16
Figure 09: Les feuilles de <i>Salvia Officinalis</i>	16
Figure10: Les feuilles de <i>Salvia Officinalis</i>	16
Figure11 : Les graines de <i>Salvia officinalis</i>	16
Figure 12: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties des plantes	17
Figure 13 : Schéma récapitulatif des différents foyers infectieux bucco-dentaires	23
Figure 14 : Démarche de l'extraction des HEs	28
Figure 15 : Montage HD.....	28
Figure16 : les disques	29
Figure17: préparation de l'inoculum.....	29
Figure 18 : préparation des suspensions microbiennes	29
Figure19: les différentes dilutions de l'HE.....	30
Figure20 : l'HE de la sauge	30
Figure 21 : Préparation des différentes dilutions	31
Figure 22 : Méthode de diffusion sur gélose	32
Figure 23 : dépôt des différentes dilutions de l'HE.....	33
Figure 24: activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de <i>Salvia officinalis</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>	35
Figure25: activité antimicrobienne des différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>	36

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Composition de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	15
Tableau n°02 : Présentation de la plante employée pour l'extraction d'huile essentielle	26
Tableau n°03 : Liste de souche microbienne testée.....	27
Tableau n°04 : Matériel et produits de laboratoire	27
Tableau n°05 : résultats de l'aromatogramme pour les différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	35
Tableau05 : résultats de l'aromatogramme pour les différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	36

Table des matières

Dédicace	i
Remerciements.....	ii
Résumé	iii
Liste des abréviations	v
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	viii

Etude bibliographique

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I: les huiles essentielles

1- Généralités	4
2- Huiles essentielles	4
2.1- Définition	4
2.2- Rôle des huiles essentielles dans la plante	4
2.3- Composition chimique	5
2.4- Localisation des huiles essentielles.....	5
2.5-Propriétés physico-chimiques des HE	5
2.5.1- Caractéristique physiques	6
2.5.2- Les caractéristiques chimiques.....	6
3- Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles.....	6
3.1- Hydro distillation simple	6
3.2- Distillation à vapeur saturée	7
3.3- Expression à froid	8
3-4 - Hydro diffusion	8
3.5- Extraction par les corps gras	9
3.6- Extraction par solvants volatils.....	9
4-Activité biologique des huiles essentielles	10
4.1- Activité liée aux microorganismes	11
4.2- Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	11
4.2.1- Activité anti-biofilm	11
4.2.2- Mode d'action	11
5- Utilisation dans le domaine buccodentaire	11
6- Usage de l'huile essentielle	12

Chapitre II: Généralités Sur Salvia

<i>Généralités Sur Salvia</i>	13
-------------------------------------	----

1-Généralités	13
2-Salvia officinalis (La sauge)	13
2.2- Répartition géographique de la plante <i>Salvia officinalis</i>	13
2.3- Composition de la sauge	14
2.3.1- Parties utilisées.....	14
2.3.2- Principaux constituants de <i>Salvia Officinalis</i>	14
2.3.3- Classification taxonomique.....	14
2.4- Les caractéristiques des plantes.....	15
2.5- Description botanique de la plante <i>Salvia officinalis</i>	16
2.6-Les principes actifs de la plante <i>Salvia officinalis</i>	17
3-Activité antimicrobienne	17
Ingrédients actifs.....	17
Avantages et utilisations	18

Chapitre III : infection buccodentaire

1- Généralités	19
2- Définition.....	19
2.1- Infection bucco-dentaire.....	19
2.2- Infection bucco-dentaire.....	20
2.2.1-Les abcès dentaires	20
2.2.1.1-Description	20
2.2.1.2- Signes cliniques.....	20
2.2.1.3- Prise en charge	20
2.2.2- La maladie parodontale.....	21
2.2.2.1- Description.....	21
2.2.2.2- Signes cliniques.....	21
2.2.2.3- Prise en charge	21
2.2.3- Carie dentaire	21
3- Micro-organismes qui jouent un rôle	21
3.1- Bactéries	21
3.2- Interactions bactériennes dans les plaques dentaires	22
4-Foyers infectieux bucco- dentaires.....	22
5-Traitements endodontiques	23

Partie pratique

Matériel et méthode

1- Objectif	26
-------------------	----

2- Lieu de l'étude.....	26
2.1- Matériel végétal	26
2.2- Souches bactériennes testées	26
2.3.2- Matériel et produits de laboratoire	27
3- Méthode d'extraction	27
3.1- Extraction d'huile essentielle	27
3.2- Technique hydrodistillation.....	27
3.4- Préparation de la suspension bactérienne (L'inoculum)	29
3.4 -Préparation des dilutions de l'HE	30
2.3.1- Milieux de culture utilisés.....	31
Résultats et discussion	
1- Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>Salvia officinalis</i>	35
1.1- Huile essentielle pure	35
5.1.2- Les différentes dilutions de l'huile essentiel.....	36
3.1- L'effet des huiles essentielles	36
Conclusion	
Conclusion	37
Références bibliographique	

Introduction

Introduction

Les maladies bucco-dentaires sont un problème de santé majeur dans le monde. Les plus courantes sont la carie dentaire, les pathologies du parodonte, les infections bucco-dentaires, le cancer de la bouche et du pharynx et les traumatismes dentaires. Selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), La carie dentaire est le 4ème défi mondial après les maladies cardiovasculaires, le cancer et le sida .Ces données indiquaient aussi qu'en 2004, la carie dentaire toucherait 5 milliards de personnes dans le monde, aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement. Les données actuelles estiment que dans les pays industrialisés, 60 à 90% des enfants scolarisés et la majorité des adultes (presque 100%) ont des caries dentaires. Par ailleurs, les maladies parodontales sévères intéressent 15% à 20% des adultes d'âge compris entre 35 et 44 ans. Le cancer de la cavité oro-buccale a une incidence de 1 à 10 cas/100 000 habitants dans le monde. Il touche plus les hommes que les femmes, les personnes âgées et les personnes de faible niveau socio-économique. Les traumatismes dentaires touchent 16 à 40% des enfants entre 6 et 12ans dans le monde. En 2012 les infections de la région oro-buccale d'origine bactérienne, fongique ou virale ont touché 40 à 50% des patients immunodéprimés spécifiquement par le VIH, soit 35 millions dans le monde [1].

Ainsi, maladies cardiovasculaires, diabète, obésité, ont tour à tour été associées dans la littérature à la présence, entre autre, d'une maladie infectieuse et inflammatoire des tissus de soutien des dents, la parodontite. Or, ces pathologies ont toutes été mises en relation avec un ensemble de modifications anthropomorphiques et biologiques plus connues sous le nom de « syndrome métabolique » [2] [3].

Plusieurs études ont révélé une disparité des approches avec notamment une absence d'un rationnel adéquat dans l'attitude thérapeutique des dentistes [3, 4,5]. De même, il a été démontré qu'une attitude conservatrice des dentistes au regard du choix de la molécule d'antibiotiques contribue moins à l'émergence des germes résistants [6].

Cette résistance des germes constitue un véritable problème de santé publique auquel devraient faire face tous les praticiens. En effet, des germes ayant acquis une capacité de résistance constituent un risque pouvant s'avérer redoutable pour la survie des patients. Parmi ces bactéries de statut résistant, on notera souvent *Enterococcus faecalis*, *Staphylocoque aureus*, les entérocoques, le *Mycobacterium tuberculosis* et le *Pseudomonas aeruginosa*. Des

études menées en milieu hospitalier sur la résistance des germes dans le cadre de la surveillance des infections nosocomiales, ont montré une forte prévalence des staphylocoques aureus résistant à la méthiciline en Europe. La prévalence des entérocoques résistant à la vancomycine reste quand même basse mais marque une tendance à la hausse. Notons par ailleurs, que le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la methiciline) constitue la 2ème cause étiologique mondiale des infections sanguines et du compartiment pulmonaire [7].

L'infection endodontique persistante demeure parmi les problèmes incurables pour les chirurgiens-dentistes. Compte tenu de l'incidence des parodontites, de la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques et des effets secondaires de certains agents antibactériens fréquemment utilisés en dentisterie. Ainsi, la recherche de nouveaux agents antimicrobiens alternatifs, efficaces et surs, pour la prévention et le traitement de ces maladies est une nécessité urgente. Les huiles essentielles, utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être considérées comme une bonne alternative thérapeutique grâce à leur activité antimicrobienne et anti-biofilm [8]. Les huiles essentielles sont des produits de composition complexe, renfermant des produits volatils contenus dans les végétaux obtenus à partir des fleurs, des feuilles, du bois, des racines, des écorces, des fruits ou autres.

Les huiles essentielles sont un assemblage de molécules complexes qui ont toutes des propriétés particulières.

Les avancées de la science et de la médecine ont engendré le développement de nombreux médicaments dont l'intérêt aujourd'hui n'est plus à prouver. Cependant leur usage, pas toujours raisonné, et leur prescription de longue durée ont entraîné des maladies dites iatrogènes, responsables de nombreux effets indésirables, voire de décès. Ainsi, l'usage abusif des antibiotiques contre les différentes infections entraîne une diminution de leur efficacité car on note une augmentation des résistances de certaines souches de bactéries à ces molécules. Ces excès ont amené certains thérapeutes à revenir à des solutions alternatives, notamment des médecines dites douces, basées sur les propriétés des plantes et notamment des huiles essentielles.

Dans le même axe de recherche et de valorisation des substances naturelles antimicrobiennes d'origines végétales, nous nous sommes proposé d'évaluer l'effet inhibiteur de certaines huiles essentielles de plantes aromatiques sur des souches de Staphylocoques, y compris *Staphylococcus aureus* responsables des infections bucco-dentaires.

Les objectifs de cette étude sont:

- ❖ Etude la résistance de ces souches envers les agents antimicrobiens (les antibiotiques).

- ❖ Evaluer l'effet inhibiteur des huiles essentielles envers les souches de *Staphylococcus aureus*.

.

.

Etude
Bibliographique

Chapitre I
Les huiles essentielles

1- Généralités

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement complexe [10]. Bio synthétisées comme métabolites secondaires par les plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence de structures sécrétrices des huiles essentielles dans presque tous leurs organes (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...). Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée. Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales [11]. La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant d'une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygènes avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés [12].

2- Huiles essentielles

2.1- Définition

Les huiles essentielles (=essences =huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation [13]. On a trouvé des huiles essentielles en quantité appréciable chez environ 2000 espèces de plantes, réparties dans 60 familles [14].

L'HEs est des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par HD ou par expression mécanique.

Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par HD, expression à froid, comme les agrumes. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes [15].

2.2- Rôle des huiles essentielles dans la plante

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est

cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires.

Les travaux de Croteau en 1977 puis ceux de Croteau et Hooper en 1978 ont montré que, bien qu'étant des produits du métabolisme secondaire, les composants volatils auraient en fait un rôle mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Certains terpènes jouent un rôle important et varié dans la relation des plantes avec leur environnement [16], Ainsi le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes responsables de la prolifération des infections ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes [17].

2.3- Composition chimique

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des trapézoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part [18].

2.4- Localisation des huiles essentielles

Les minuscules gouttelettes des huiles essentielles sont rencontrées dans tous les types d'organes: racines, tiges, bois, écorce, feuille, fruits, etc. Elles sont produites par diverses structures spécialement différenciée, l'huile essentielle est produite et stockée dans des tissus sécréteurs de la plante, ces tissus sont divisés en deux groupes:

*Les poils glandulaires épidermiques rencontrés souvent chez les *Lamiaceae*, les *Geraniaceae* et les *Rutaceae*, ils produisent les essences dites superficielles. Les organes sécréteurs sous cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices au sein du tissu végétal chez les *Myrtaceae*, les *Aurantiaceae*, ainsi que des canaux sécréteurs chez les *Umbelliferaeae* [19].

2.5-Propriétés physico-chimiques des HE

On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire.

Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de sassafras.

Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables [20].

2.5.1- Caractéristique physiques

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes, elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche dans les solvants organiques et huiles végétales, par contre elles ont des caractéristiques différentes :

- Rendements en huiles essentielles.
- Densité.
- Indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre).
- pH.

2.5.2- Les caractéristiques chimiques

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante que sont les protéines, les lipides, les sucres..., elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production d'huiles essentielles, certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse.... etc [21].

3- Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles

3.1- Hydro distillation simple

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée (figure N°1). Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat] [22].

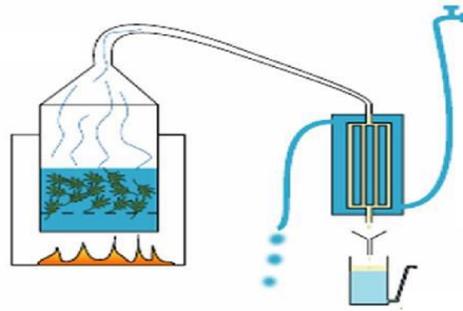


Figure 01: Montage d'extraction par Hydro distillation [70]

3.2- Distillation à vapeur saturée

A la différence de l'HD, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille (figure N°2). La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles Pour former un mélange « eau + huile essentielle ».

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique " l'huile essentielle". L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [23].

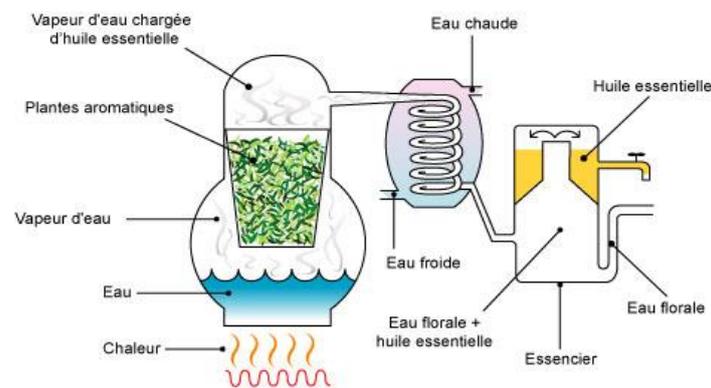


Figure 02 : Distillation à vapeur saturée [71]

3.3- Expression à froid

Cette technique sans chauffage est réservée à l'extraction des zestes des agrumes. Le principe est mécanique. Il est fondé sur la rupture des péricarpes, réservoirs d'essences olfactives, en passant les agrumes sur des récipients dont les parois sont recouvertes de pics en métal (figure N°3). L'essence est libérée par un courant d'eau, puis décantée. La présence de l'eau peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse, de contamination par des pesticides résiduels ou des micro-organismes. Une nouvelle technique physique basée sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous l'effet soit d'une dépression, soit par abrasion de l'écorce fraîche, éliminerait l'eau et diminuerait les effets d'oxydation des composés de ces essences [24].

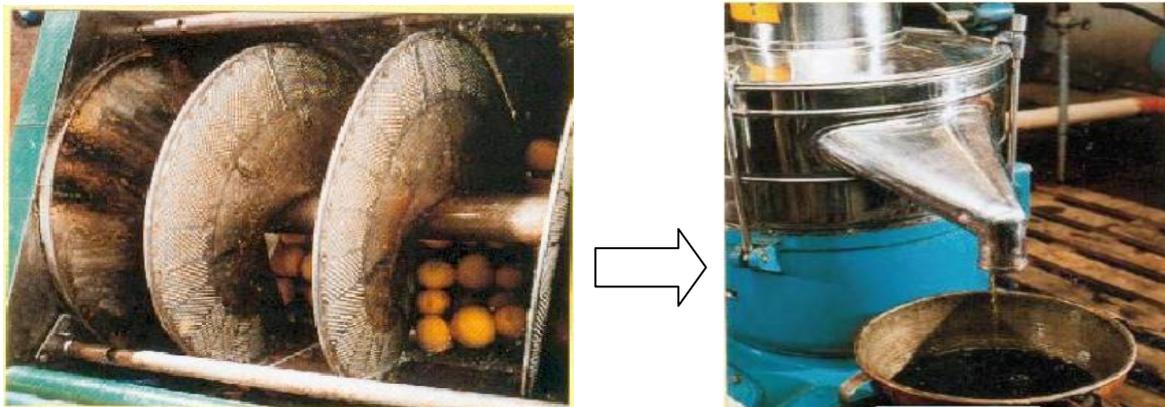


Figure 03 : Photos à gauche d'une pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de *Citrus* [72]

3-4 - Hydro diffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale (figure N°4), du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie [25].

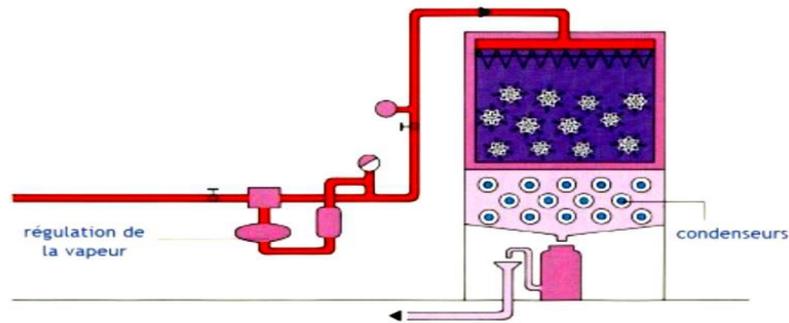


Figure04 : L'hydro diffusion [73]

3.5- Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud (figure N°5), par immersion des organes végétaux dans le corps gras. [26]

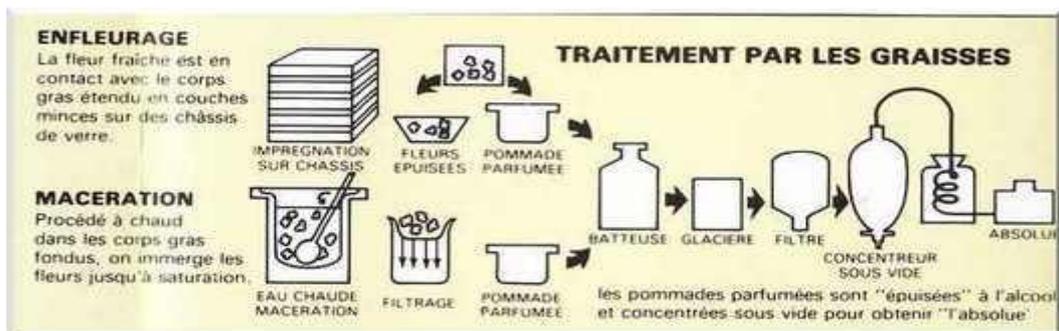


Figure 05 : Technique d'extraction par les corps gras [74]

3.6- Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter (figure N°6). Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être

distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une huile essentielle dite « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation. L'intervention de solvants organiques qui peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer. Le choix du solvant : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane.

Cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons [27].

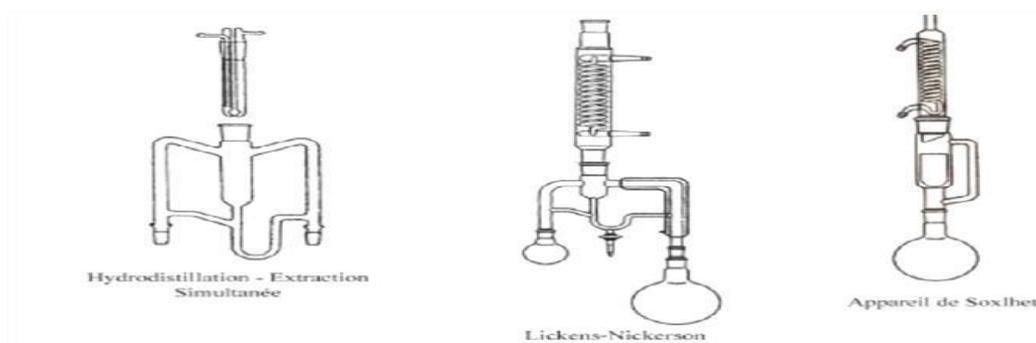


Figure 06 : Les différents types d'extraction par solvants volatils [74].

4-Activité biologique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités fongicides, insecticides, herbicides, bactéricides.

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires [28].

4.1- Activité liée aux microorganismes

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, bio statique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à son métabolisme et à sa résistance [32].

En effet, les bactéries Gram négatif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram positif grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatif est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram positif la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer [33].

4.2- Activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle semble être influencée par la structure chimique des molécules aromatiques, leurs proportions ainsi que par leurs actions combinées à plusieurs niveaux de la structure bactérienne. Certaines études ont montré que l'huile essentielle intégrale donne une activité antibactérienne plus importante que le mélange des composants majoritaires. Cela laisse penser que les molécules minoritaires sont également impliquées dans ce processus biologique et qu'un effet synergique ou additif peut avoir lieu entre les différents composants d'une huile [11].

4.2.1- Activité anti-biofilm

Les huiles essentielles sont avérées très efficaces vis-à-vis des biofilms microbiennes, où elles peuvent agir de plusieurs façons. Les huiles essentielles à faible concentration inhibent la formation des biofilms bactériens par plusieurs mécanismes. Notamment, l'activation des gènes de réponse contre-stress qui à leur tour diminuent la production des polysaccharides extracellulaires [29].

4.2.2- Mode d'action

A ce jour, l'activité antimicrobienne des HEs n'est pas clairement élucidée. Cette ambiguïté est attribuée à plusieurs facteurs, notamment la variété des composés actifs existants au sein d'une HE donnée, avec la possibilité de synergie ou antagonisme entre ces molécules. En revanche, ce qui est sûr selon pas mal d'études, la cible d'action de la plupart des HEs est focalisée envers les membranes cytoplasmiques des microorganismes [44].

5- Utilisation dans le domaine buccodentaire

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies.

Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice Gatte fosse, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections. Selon lui, la lavande était plus appropriée pour traiter les infections que plusieurs antiseptiques utilisés à cette époque. Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie [24].

Les HEs sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries .La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possèdent une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire [30].

6- Usage de l'huile essentielle

L'huile essentielle est largement utilisée en aromathérapie comme antiseptique. Elle entre dans la composition de diverses spécialités (pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour le traitement des affections des voies respiratoires, préparations pour l'antiseptie buccale) [31].

Chapitre II
Généralités Sur
Salvia officinalis

1-Généralités

Les plantes médicinales Algériennes méritent une attention particulière. Il existerait en effet 3139 espèces décrites par Quézel et Santa (1962), dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales [34].

La famille des *Lamiaceae* connue également sous le nom des Labiées, comprend environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentre dans le bassin méditerranéen tel que le thym, l'origan, la lavande et le romarin [35].

La plupart des genres ont une importance économique due à leur richesse en huiles essentielles et leur utilisation en tant que condiments ainsi que infusions très prisées. Ainsi, ils ont fait l'objet de plusieurs études scientifiques dans le but d'évaluer la présence de certains métabolites secondaires typiques [36].

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies [37].

2. *Salvia officinalis* (La sauge)

La sauge est une plante très ramifiée, aux tiges de section carrée, à la base lignifiée mesure de 20 à 30 centimètres. La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. Les feuilles opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, veloutées, oblongues, rugueuses, à bord dentelé réticulées, molles, à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège. Les fleurs, bleu-rose lilas, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis. Commune en Europe, plus spécialement dans les régions méridionales, elle est cependant rare à l'état sauvage. Sa hauteur est de 50 à 60 cm [38].

2.2- Répartition géographique de la plante *Salvia officinalis*

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranées orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires et croit de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le dans le nord de l'Afrique. Cette espèce euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) [39]



Figure 07: La sauge (origine 2021).

2.3- Composition de la sauge

2.3.1- Parties utilisées

En phytothérapie, les parties utilisées de la sauge sont les feuilles.

2.3.2- Principaux constituants de *Salvia Officinalis*

- Huile essentielle ;
 - Composés phénoliques dont l'acide rosmarinique ;
 - Tanins et flavonoïdes ;
 - Riche en œstrogènes (hormones féminines)
- *Salvène* [40]

2.3.3- Classification taxonomique

.la sauge suit la classification suivante :

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Espèce : *Salvia officinalis* L. [41]

Tableau 01 : Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* [42]

Hydrocarbures terpéniques		Cétones	
Myrcène	0,3 à 3%	Camphre	4,1 à 27,5%
Limonène	trace à 7,6%	a-thujone	1,5 à 44,2%
Humulène	trace à 18,9%	P-thujone	1 à 36,7%
a-pinène	1,7 à 13,1%	Ester	
P-pinène	0,5 à 17,9%	Acétate de bornyl	0,1 à 3,5%
Camphène	1,1 à 10,3%	Alcools	
,P-caryophyllène	trace à 9,4%	Linalol	trace à 1,8%
p-cymène	trace à 1,1%	Bornéol	0,7 à 6,2%
		Viridiflorol	0 à 9,9%
		Autres	
		1,8- cinéole	0,7 à 20,8%

2.4- Les caractéristiques des plantes

Les végétaux sont des organismes autotrophes, c'est-à-dire qu'ils produisent leur propre matière organique (comme les glucides, les lipides donc les principes actifs) à partir de sels minéraux puisés dans le sol et de dioxyde de carbone, assimilé par les feuilles grâce à l'énergie solaire : c'est le mécanisme de photosynthèse [45]. La couleur verte des plantes est obtenue par le biais de la chlorophylle contenue dans les chloroplastes [46].

2.5- Description botanique de la plante *Salvia officinalis*

Cette plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre (figure N°8), Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées

(Figure N°9) ; fleurs bleu-violacés clairs en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés (figure N°10), calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée (figure N°11) ; fruits en forme de tétrakènes [39]



Figure 08: Aspect de la plante *Salvia officinalis*



Figure 09: Les feuilles de *Salvia officinalis*



Figure10: Les fleurs de *Salvia officinalis*.



Figure11 : Les graines de *Salvia officinalis*.



Figure 12: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties des plantes [47]

2.6-Les principes actifs de la plante *Salvia officinalis*

La plante contient de l'huile essentielle (les cétones non terpéniques sont considérées comme les principaux constituants), des tanins catéchiques, des acides polyphénols carboxyliques, (rosmarinique, caféique, chlorogénique, p-comarique, férulique), des principes amers diterpénique, des triterpènes pentacycliques (acides uronique, oléanolique etc.), des phytotrons, des flavones [48].

3-Activité antimicrobienne

L'huile essentielle de sauge inhibe la croissance de certaines bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Ces effets sont d'autant plus intéressants, que certaines de ces souches peuvent être pathogènes chez l'homme et présentent des résistances aux antibiotiques classiques [49].

Ingrédients actifs

La partie utilisée de la plante de sauge sont les feuilles qui sont collectées lorsque la plante commence à fleurir. Ces feuilles contiennent des huiles de 2,5% ou plus, et l'huile qu'elles contiennent est jaune verdâtre, de plus, les feuilles contiennent des substances amères, des tanins et des résines

Avantages et utilisations

L'extrait ou l'infusion aqueuse de feuilles de sauge sont utilisés pour soulager les maux de gorge et les douleurs gingivales. Utilisez-le sous forme de rinçage et utilisé comme boisson pour éliminer la toux, renforcer et stimuler la circulation sanguine et réduire les cas d'agitation nerveuse, calmant les nerfs, arrêtant la diarrhée et augmentant la sécrétion de bile. L'herbe peut être utilisée aussi, dans le traitement des troubles de l'estomac, la régulation des processus digestifs ou le soulagement des douleurs rénales et de la rétention urinaire. L'huile volatile est utilisée comme antiseptique ou comme traitement pour certaines maladies de la peau, et l'huile volatile dans son ensemble soulage les spasmes musculaires et est antibactérienne [50].

Chapitre III
Infection
buccodentaire

1- Généralités

Parmi les multitudes théories sur la carie dentaire voir celle interne de Fors Hund, celle protéolytique de Gottlieb, celle de chélation de Schatz et celle chimicobactérienne de Miller; c'est surtout cette dernière qui est la plus communément admise aujourd'hui. La carie dentaire est un processus chimico-parasitaire au cours duquel il y a une déminéralisation de l'émail conduisant à sa destruction. L'acide provoquant cette déminéralisation proviendrait de la fermentation des hydrates de carbone dans les sillons dentaires [51].

L'alimentation jouant un rôle essentiel dans la formation et le développement de la carie dentaire [52].

Les maladies non transmissibles, au même titre que les maladies transmissibles, constituent pour les pays en voie de développement de lourds fardeaux qui pèsent considérablement sur leur développement socio-économique.

Au Mali, les affections bucco- dentaires constituent, à l'instar des autres pays en développement, un sérieux problème de santé publique [53].

Selon l'OMS, la santé bucco-dentaire dépend des facteurs sociaux et environnementaux et aussi, fortement, de ceux liés au mode de vie.

Il faut également prendre en considération les effets qu'elles peuvent avoir en termes de douleur, de déficience fonctionnelle et de détérioration de la qualité de vie [54].

Le traitement classique des maladies bucco-dentaires est extrêmement coûteux dans nombre de pays industrialisés et est inaccessible dans la plupart des pays à revenu faible ou intermédiaire.

Elles peuvent aussi altérer l'alimentation et avoir des conséquences psychologiques et sociales importantes [55].

Les affections bucco-dentaires restreignent les activités scolaires, entraînent la perte des heures d'études chaque année partout dans le monde. L'impact psychologique et social de ces maladies diminue la qualité de vie [53].

2- Définition

2.1- Infection bucco-dentaire

- Infection : affection bactérienne, virale, mycosique ou parasitaire d'un tissu.

Selon la localisation de l'infection et la nature de l'agent infectant, un traitement anti-infectieux spécifique est prescrit dont la posologie et la durée doivent être respectée.

De très nombreux germes sont responsables d'infections chez l'homme, notamment ceux de la brucellose, des légionelloses, des pasteurelloses, les gonocoques, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, chlamydia, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, Staphylocoques, Streptocoques [64].

2.2- Infection bucco-dentaire

Dans le cas des infections bucco-dentaires, les antibiotiques sont réservés à des situations peu fréquentes. Une antibioprophylaxie peut être recommandée lors de certains actes invasifs (traitement des caries, détartrage, soin parodontal, chirurgie parodontale, chirurgie osseuse, chirurgie implantaire) en fonction du profil du patient. Une antibiothérapie curative peut aussi être indiquée dans certaines circonstances en complément d'un traitement local efficace.

Mais d'une manière générale, le traitement des foyers infectieux est le plus souvent non médicamenteux, et l'hygiène orale revêt un caractère fondamental dans la prévention des infections bucco-dentaires [65]. De nombreuses maladies peuvent survenir au niveau des dents et du parodonte :

2.2.1-Les abcès dentaires

2.2.1.1-Description

Les abcès dentaires sont une accumulation de pus liée à une infection au niveau d'une dent ou de la gencive, qui résulte souvent de la complication d'une carie dentaire mal soignée.

2.2.1.2- Signes cliniques

Le signe le plus caractéristique d'un abcès dentaire est une douleur intense, voire lancinante, dans la dent ou la gencive. Cette sensation survient en général brutalement et peut s'aggraver très rapidement.

2.2.1.3- Prise en charge

La prise en charge d'un abcès dentaire est assurée par un chirurgien-dentiste : elle consiste en un drainage de l'abcès permettant l'évacuation du pus, et la mise en place d'une pâte pour remplacer la pulpe de la dent retirée. Les antibiotiques ne sont généralement pas nécessaires [66].

2.2.2- La maladie parodontale

2.2.2.1- Description

La maladie parodontale est une inflammation des tissus de soutien de la dent. Elle est provoquée par l'accumulation de plaque bactérienne à la jonction des dents et des gencives. L'inflammation débute au niveau des gencives, on parle alors de gingivite, et elle peut se propager au niveau des ligaments et des os, il s'agit alors de parodontite.

2.2.2.2- Signes cliniques

La maladie parodontale se manifeste par des saignements lors du brossage, une mauvaise haleine, les gencives deviennent rouges, gonflées. Cela peut conduire au déchaussement des dents.

2.2.2.3- Prise en charge

La prise en charge de la maladie parodontale repose avant tout sur l'assainissement des gencives inflammées et sur des conseils d'hygiène [67].

2.2.3- Carie dentaire

La carie dentaire bénéficie de plusieurs définitions dont nous proposons deux :

La carie dentaire est une maladie microbienne qui provoque la destruction progressive et localisée des tissus calcifiés de la dent par déminéralisation et désorganisation des structures matricielles.

La carie dentaire est une altération des tissus durs de la dent, altération qui aboutit à la formation de cavité plus ou moins importante et qui révèle d'une agression par divers agents ou facteurs locaux [56].

3- Micro-organismes impliqués

3.1- Bactéries

Les micro-organismes les plus impliqués sont les suivants :

- *Staphylocoques*, principalement *Staphylococcus aureus*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Streptococcus pyogenes*

Cependant, n'importe quelle bactérie peut, en principe, être transmise, même celle de la flore normale pour autant que l'hôte présente un risque infectieux élevé (par exemples : *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Legionella* ; ce dernier peut aussi être transmis théoriquement par l'intermédiaire d'aérosols) [57].

3.2- Interactions bactériennes dans les plaques dentaires

La biodiversité microbienne des plaques dentaires matures les rend un terrain favorable d'interactions complexes entre les espèces résidentes dans ces biofilms [58].

Il est connu que le vieillissement, l'éruption des dents, les changements hormonaux, l'hygiène bucco-dentaire et d'autres facteurs ont une influence directe sur la formation des biofilms et l'accumulation des bactéries dans la cavité buccale [59]. La communication métabolique, l'échange génétique, la production de facteurs inhibiteurs (par exemple, bactériocines, le peroxyde d'hydrogène), et la détection du quorum sont des facteurs clés qui déterminent la composition bactérienne et/ou le type du métabolisme au sein des plaques dentaires [60].

4-Foyers infectieux bucco-dentaires

La Société Française de Chirurgie Orale a défini les foyers infectieux bucco-dentaires comme étant les infections dentaires, les infections parodontales, les péri-coronarites et les péri-implantites [61]. Ces infections peuvent être d'origine bactérienne, virale ou mycosique mais que ce soit au niveau des dents ou au niveau des tissus mous, l'origine bactérienne est, de loin, la plus fréquente [62].

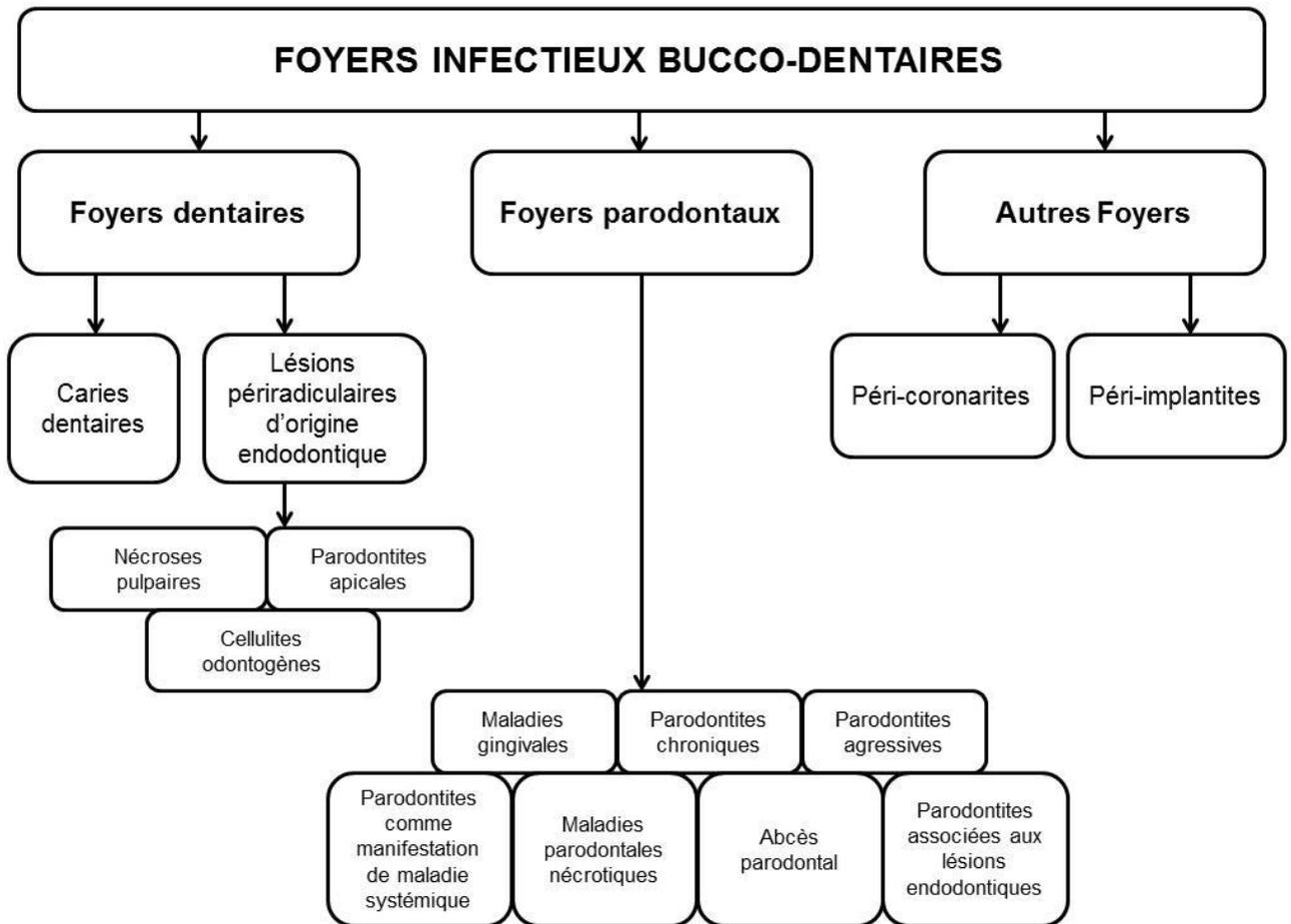


Figure 13 : Schéma récapitulatif des différents foyers infectieux bucco-dentaires [75].

Toutes ces infections pourront aussi générer des complications locorégionales extra-buccales (sinusites, thrombophlébites, septicémies) ou générales (fasciites nécrosantes, maladies cardiovasculaires, arthrite rhumatoïde est important [61], d'une part, de connaître la diversité et la gravité de leurs atteintes et d'autre part, de comprendre le risque de porte d'entrée qu'elles représentent [62].

5-Traitements endodontiques

La pathologie endodontique est la cause principale de consultation dentaire en urgence, dont son traitement consiste à préparer, décontaminer et obturer le système canalaire afin de prévenir ou de traiter une parodontite apicale. Ce sont les trois piliers de l'endodontie actuelle décrite par [64].

Partie Pratique

Matériel et méthodes

1- Objectif

Le présent travail porte sur l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L). Il consiste tout particulièrement :

- Extraction des HE de plante de la sauge par l'utilisation par l'hydrodistillation.
- Recherche de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

2- Lieu de l'étude

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie à la faculté des Science de Nature et de la vie de l'Université de Mostaganem.

2.1- Matériel végétal

Notre étude a porté sur une espèce de plante de la famille de *Lamiaceae* « *Salvia officinalis* ». Les échantillons de la sauge ont été récoltés pendant la période de la floraison, dans le site « ITA » de l'Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem au mois de Mars. Le matériel végétal est constitué de feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L).

Tableau 02: Présentation de la plante utilisée pour l'extraction d'huile essentielle

Nom botanique	Nom vernaculaire	Famille	Organes utilisés
<i>Salvia officinalis</i> L	Arabe: المرمية Français: la sauge	<i>Lamiaceae</i>	Feuilles

2.2- Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes utilisées pour tester l'activité antibactérienne sont *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* des souches de référence fournies par le laboratoire de Microbiologie de la faculté des sciences Mostaganem. Ces espèces sont des contaminants fréquents provoquant diverses infections parmi lesquelles les infections buccodentaires (Tableau 03).

Tableau 03: Souches microbiennes testées

Bactéries	Type de bactérie	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i> 29213	Cocci Gram+	Laboratoire de microbiologie de l'Université de Mostaganem
<i>Escherichia coli</i> 25922	Bacille Gram –	

2.3.2- Matériel et produits de laboratoire

Tableau 04: Matériels et les produits utilisés

Verreries et appareillages		Solvants et les Milieux de culture utilisés
Autoclave	Bain marie	-DMSO
Etuve de 37°C	Bec bunsen	- Eau distillé
Réfrigérateur	Tubes à essai	- Milieux de culture :
Pipettes pasteur	Anse à platine	Gélose Muller Hinton
Boites de pétri	Clevenger	Gélose Nutritive
Chauffe ballon		- Eau physiologique stérile

3- Méthode d'extraction

3.1- Extraction d'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée dans le laboratoire de biochimie de l'université de Mostaganem à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type clevenger

3.2- Technique hydrodistillation

Les feuilles des espèces végétales utilisées sont découpées en petits morceaux pour faciliter leur introduction dans un ballon en verre de 01 litre, rempli d'eau jusqu'aux 2/3 de sa

capacité, l'eau est ensuite chauffée dans un chauffe ballon jusqu'à ébullition, ce qui entraîne la formation d'une vapeur qui va entraîner les constituants volatiles (Fig.14). Ces vapeurs s'élèvent et passent dans le réfrigérant, la condensation de la vapeur. Au contact des parois du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent au goutte à goutte dans un récipient où elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huile essentielle + eau).

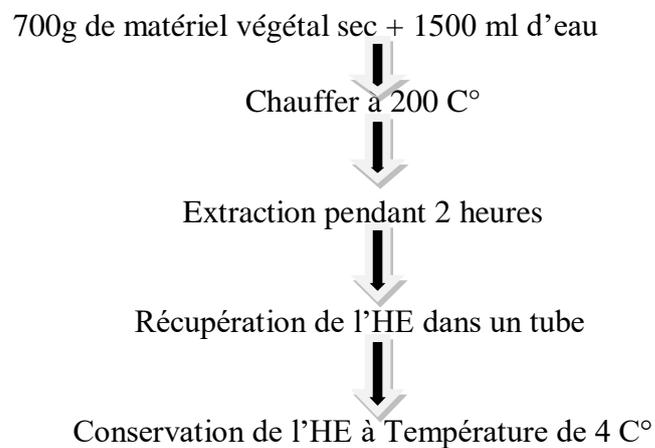


Figure 14 : Démarche de l'extraction des HEs



Figure 15 : Montage HD (origine 2021)

3.3- Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir du papier wattman N3 de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30 minutes à 120°C, puis stockés à température ambiante.



Figure16 : les disques stériles

3.4- Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum)

La suspension est préparée à partir d'une culture jeune obtenue sur gélose nutritive de 18 à 24H, quelques colonies des souches cibles ont été prélevées et diluées dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % qui ont été bien homogénéisées, puis incubées à 37°C durant 3 heures (figure N°17).

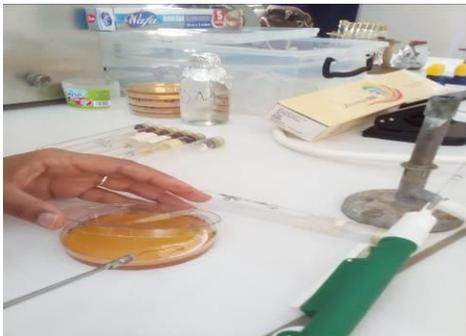


Figure17: Préparation de l'inoculum.



Figure 18 : Préparation de la suspension bactérienne

3.4 -Préparation des dilutions de l'HE

Une série de dilutions de l'huile essentielle dans le DMSO (dimethylsulfoxyde) a été réalisée en débutant par une dilution à 1/2 jusqu'à la dilution de 1/64, dans des tubes en verre stériles :

- Le premier contient 500 µl d'huile essentielle et 500 µl de DMSO.
- 500 µl de la première dilution sont transférées dans le deuxième tube (1/4) auquel on rajoute 500 µl de DMSO.
- Des dilutions à 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 sont préparés de la même manière selon le schéma de la

Figure 15.



Figure19: les différentes dilutions de l'HE



Figure20 : l'HE de la sauge

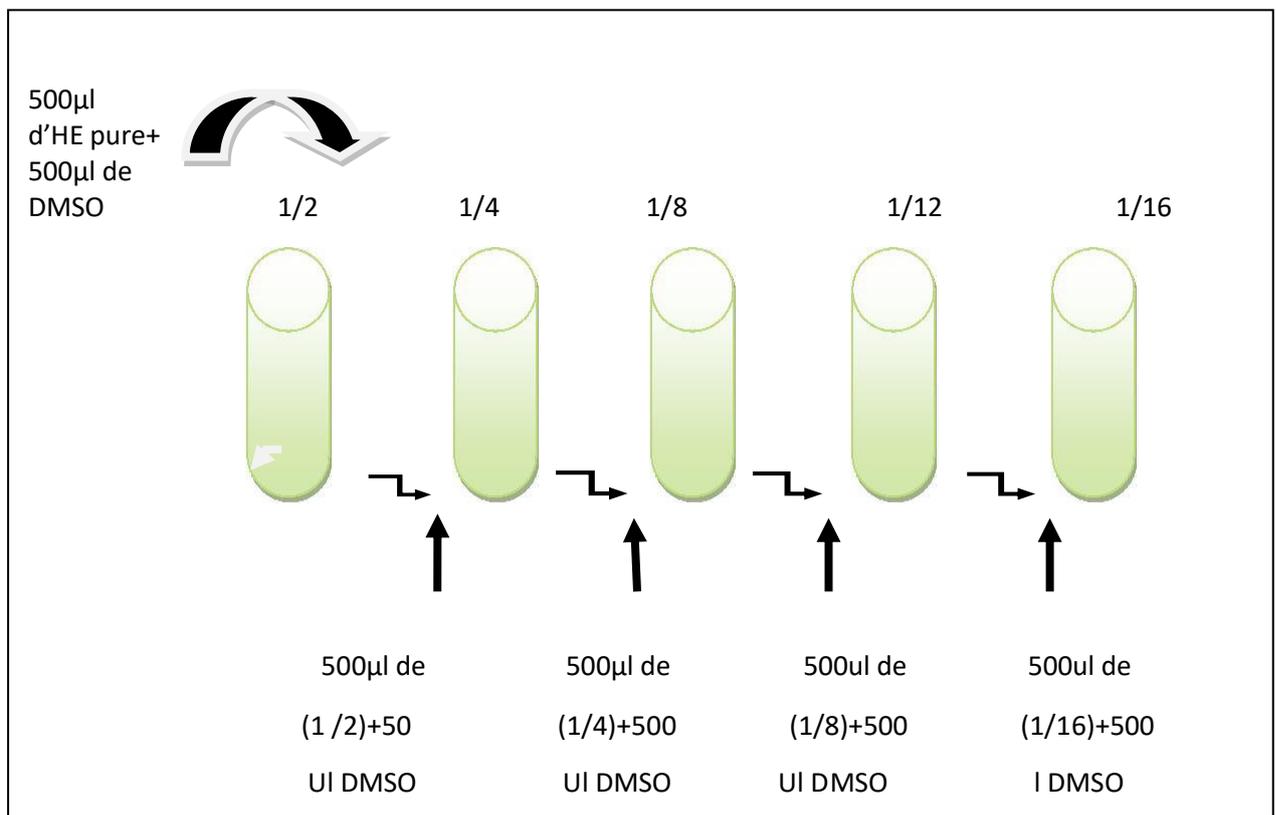


Figure 21 : Préparation des différentes dilutions

2.3.1- Milieux de culture utilisés

Selon les méthodes employées, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants:

*La gélose CLED pour l'isolement, l'entretien et l'étude de sa sensibilité à l'HE ;

*La Gélose Nutritive (GN) pour l'ensemencement des souches bactériennes ;

*La gélose Mueller Hinton (MH) pour l'étude de la sensibilité des bactéries à des HE ;

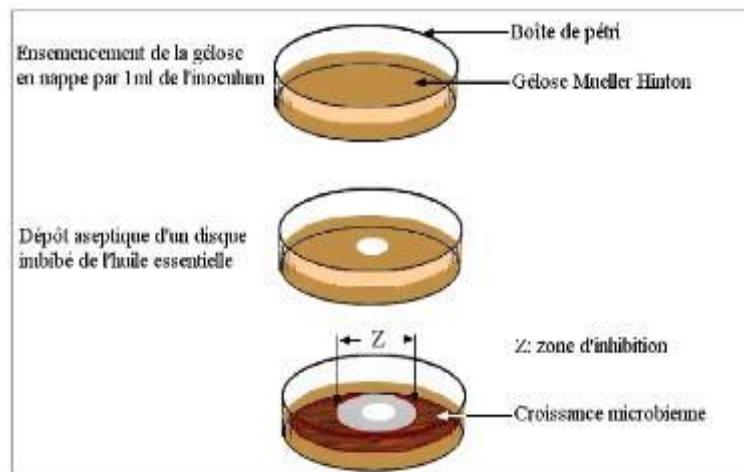


Figure 22 : Méthode de diffusion sur gélose

- **L'Ensemencement**

- Le milieu de culture utilisé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens est la gélose Muller-Hinton (MH)
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



Figure 22 : Ensemencement des souches microbiennes

- **Dépôt des disques d'aromatogramme**

Une fois les géloses Muller-Hinton sont ensemencées, à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen, les disques préalablement préparés sont imbibés par 10 μ l de chaque et déposés sur la surface de la gélose dans des conditions stériles, à raison de trois disques par boîte de pétri pour les différentes dilutions et un disque par boîte pour l'huile essentielle pure. Les boîtes ont été maintenues à température ambiante pendant 20 minutes pour que les composés puissent diffuser.



Figure 23 : Dépôt des différentes dilutions de l'HE

Contrôle négatif

Dans chaque boîte de pétri, un disque de papier buvard a été déposé sans être imbibé.

Incubation

Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm).

- **Expression des résultats**

L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo autour des disques, dont le diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre du disque de 6 mm).

Une échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle en se basant sur les diamètres des zones d'inhibition (D) permet de distinguer 5 classes d'HE [68].

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
- Non inhibitrice : $D \leq 10$ mm

La sensibilité des souches aux agents antimicrobiens a été classifiée en fonction des diamètres d'inhibition des zones d'inhibition selon **Djeddi et al. (2000)** [69] comme suite :

- (-) souche résistante ($D < 8$ mm) ;
- (+) souche sensible ($9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$) ;
- (+ +) souche très sensible ($15 \text{ mm} \leq D \leq 19$ mm) ;
- (+ + +) extrêmement sensible ($D > 20$ mm).

Résultats et discussion

1- Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Salvia officinalis*

1.1- Huile essentielle pure

Les résultats sont présentés figure 24

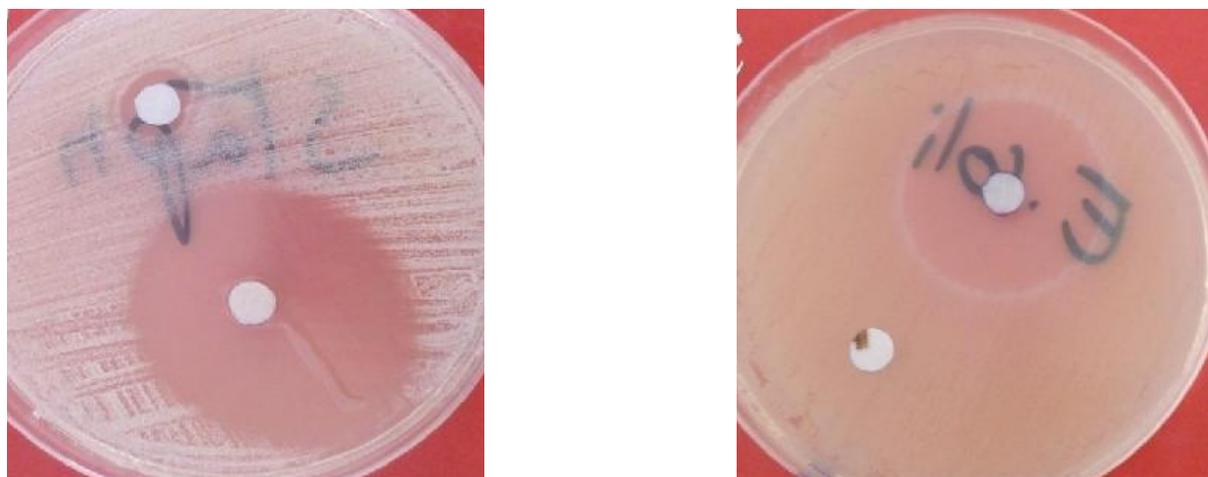


Figure 24: Activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de *Salvia officinalis* sur *Staphylococcus aureus* (à gauche) et *Esherichia coli* (à droite)

Tableau 05: Résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle pure de *Salvia officinalis*.

Souche Microbienne	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Esherichia coli</i>
Diamètre d'inhibition	28 mm	18mm

Les espèces microbiennes testées présentent des diamètres d'inhibition différents vis-à-vis de l'huile essentielle du *Salvia officinalis*. *Staphylococcus aureus* est l'espèce qui a présenté le plus grand diamètre d'inhibition (28mm).

5.1.2- Effet des différentes dilutions de l'huile essentielle sur les germes testés

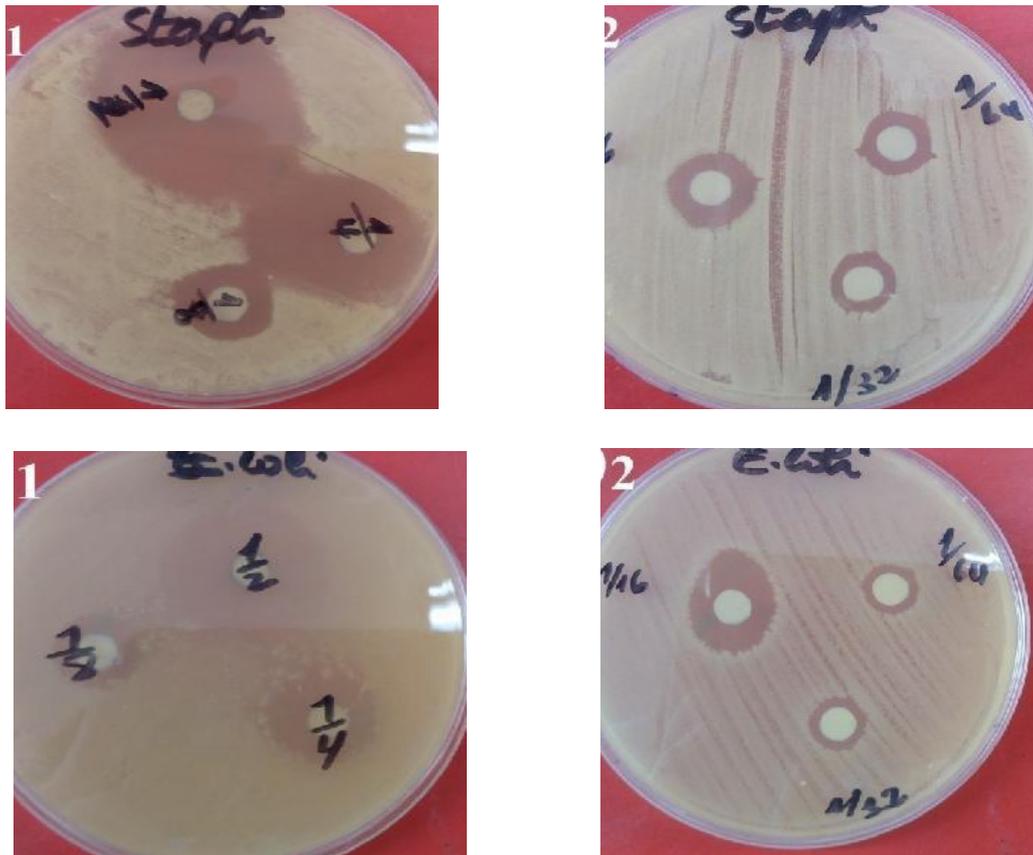


Figure 25: Activité antimicrobienne des différentes dilutions de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur *Staphylococcus aureus* (à gauche) et *Escherichia coli* (à droite)

3.1- L'effet des huiles essentielles

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des HE vis-à-vis des bactéries testées. La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques.. Les résultats de l'aromatogramme de l'HE sont regroupés dans le tableau 05 suivant.

Tableau 05 : Résultats de l'aromatogramme pour les différentes dilutions de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

Dilutions						
Souche bactérienne	1/2	1/4	1/8	1/12	1/16	1/32
<i>Staphylococcus aureus</i>	21mm	19mm	15mm	14mm	13mm	9mm
<i>Escherichia coli</i>	15 mm	15mm	14mm	13mm	12mm	8mm

D'après le tableau 05, on constate que les HE ont montré un important effet inhibiteur contre les microorganismes étudiés. En effet, les zones d'inhibition obtenues, varient entre 6 et 28,5 mm, indiquant que les deux souches ont des sensibilités différentes selon la concentration de l'HE. Par ailleurs, plus la concentration en HE augmente, plus l'inhibition devient importante pour les deux espèces bactériennes testées. Globalement on peut déduire que *Staphylococcus aureus*, une espèce à Gram (+) s'est montré plus sensible à l'action inhibitrice de cette huile essentielle.

C'est ainsi et suite à ces résultats, l'huile essentielle est jugée modérément active contre les souches testées, avec diamètre d'inhibition de ($D > 20$ mm)

Conclusion

Conclusion

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. Le objectifs évaluer l'effet inhibiteur des huiles essentielles envers les souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* responsables d'infections buccodentaires et d'origine dentaires. Le but final de ce modeste travail était de proposer des solutions alternatives à base des huiles essentielles.

De nos jours, les huiles essentielles sont des substances très sollicitées dans divers domaines. La thérapeutique médicale étant le domaine dans lequel elles sont le plus prometteuses avec leur activité antimicrobienne, qui peut être mise à profit face aux résistances bactériennes qui ne cessent d'augmenter.

A la suite de notre présente étude, on recommande le développement d'une réglementation algérienne concernant les huiles essentielles et une étude approfondit sur les HEs des plantes algériennes.

Aussi, il serait intéressant de faire des campagnes d'information et de sensibilisation de la population sur la meilleure façon d'utiliser les plantes et leurs huiles essentielles, car les huiles essentielles peuvent être utilisées par presque toutes les voies d'administration, surtout locales, mais avec de grandes précautions.

Vu les résultats obtenus, il serait très intéressant de valoriser et de commercialiser des solutions à base d'huile essentielles des plantes étudiées, telles que des bains de bouche. Il serait aussi intéressant d'évaluer d'autres métabolites, synthétisés par les plantes, dans les traitements endodontiques.

*Références
Bibliographiques*

Référence bibliographiques

[1] Fine D, Hammond B, Loesche W. Clinical use of antibiotics in dental practice. Int J of Antimicrob Agents 1998; 9:235-8

[2] Catherine benguigui .état buccodentaire et désordre métabolique DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE TOULOUSE délivré par l'Université Toulouse III – Paul Sabatier. le 10 décembre 2012 .

[3] Monique Tremblay, DMD, MA; Daniel Gaudet, MD, PhD; Diane Brisson, PhD, CCRP, Metabolic Syndrome and Oral Markers of Cardiometabolic Risk, Jcda – ca.2011.

[4] Paul Zimmet, George Alberti, Jonathan Shaw << Nouvelle définition globale du syndrome métabolique : raisonnement et résultats>>, Diabetes Voice, volume 50 numéro 3. Septembre 2005.

[5] MARTIN SÉNÉCHAL, Obésité-dynapénique et syndrome métabolique. Thèse présentée au Centre universitaire de formation en gérontologie en vue de l'obtention du grade de Docteur (Ph.D.) en gérontologie, Université de Sherbrooke. juillet 2012.

[7] Nigel Unwin. The metabolic syndrome. J Royals Society of Medicine, Vol 99. Sep 2006.

[6]Curtis.L., Bartolomei.J., Merlo.M.C.G. Le syndrome métabolique chez le patient sous traitement antipsychotique : un défi pour le psychiatre et psychothérapeute. 2008

[8]Jain H., Mulay S.,Mullany P. (2016). "Persistence of endodontic infection and *Enterococcus faecalis*: Role of horizontal gene transfer." Gene reports 5: 112-116.

[9]Géraldine GIRARD. Les propriétés des huiles essentielles dans les soins buccodentaires d'hier à aujourd'hui. Thèse de Doctorat .UNIVERSITÉ Henri Poincaré.2010, p6-8.

[10]Goetz P.,Ghedira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse, Springer Jain H., Mulay S.,Mullany P. (2016). "Persistence of endodontic infection and

[11]Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A.,Zhiri A. (2012). "Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action." Journal de Pharmacie Clinique 31(3): 141-148.

[12]Blobel G.,Dobberstein B. (1975). "Transfer of proteins across membranes. II. Reconstitution of functional rough microsomes from heterologous components." The Journal of cell biology 67(3): 852-862.

[13] Bruneton, 1999). Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, TEC et DOC. Paris, p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784-790.1292. [14] Marouf et Reynaud, 2007 Marouf, A., Reynaud, J. (2007). La botanique de A à Z. DUNOD, Paris, p :9-114-151 167-176-177-295-298.)

[15] Nadia FEKIH. Propriétés chimique et biologiques des huiles essentielles de trois espèce du genre pinus poussant en Algérie. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEM. 2014. p7

[16] Mahmout (1992). Contribution à l'étude de quelques aromates et condiments utilisés au Tchad. *Thèse de Doctorat*: Université des sciences et techniques de Languedoc, Montpellier I

[17] Razafindrakoto, 1988) Razafindrakoto, B. S. (1988). Huiles essentielles d'*Eucalyptus* de Madagascar variabilité de la composition chimique et des rendements en fonction de la période de récolte, essais de classement chimiotaxonomique et propriétés pharmacologiques. *Thèse de doctorat en chimie organique, minérale, analytique et industrielle* (p. 168): Université des sciences et techniques de Languedoc, Montpellier

[18] Dorosso Sonate J. Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou. 2002.

[19] I Paupardin et al., 1990) Paupardin C., Leddet C., Gautheret R. ; (1990). Genetics, selection and multiplication. Amélioration of *Artemisia* species (*Artemisia ubelliformis* and *E. genipi*) by meristem culture. *J. Jap. Bot.* ; 65 ; 33..

[20] Jacques G. Paltz s.a.- Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacques Paltz". 1997

[21] Richard, 1992) Richard H. et Peyron F., 1992, Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 339

[22] Piochon, M., Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. 2008: ProQuest.

[23] Lucchesi, M.-E., Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de la Réunion. 2005.

[24]PIERRON Charles. Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gériologie et soins palliatifs .Thèse de Doctorat UNIVERSITÉ DE LORRAINE.2014. p 27.

[25] Bassereau, M., A. Chaintreau, S. Duperrex, D. Joulain, H. Leijts, G. Loesing, N. Owen, A. Sherlock, C. Schippa, and P.-J. Thorel, GC-MS Quantification of suspected volatile allergens in fragrances. 2. Data treatment strategies and method performances. Journal of agricultural and food chemistry, 2007. 55(1): p. 25-31.

[26] Lawrence, B.M., The isolation of aromatic materials from natural plant products. 1995.

[27]BENOUALI Djillali.. Extraction et identification des huiles essentielles.UNIVERSITE D'ORAN .2016 p. 8-9

[28] Lahlou, M., Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research, 2004. 18(6): p. 435-448. [9].

[29] Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune M. A., Bendahou M., Muselli A.,Costa J. (2014). "Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state." Asian Pacific journal of tropical biomedicine 4(6): 463-472.

[30] --Paul Goetz Kamel Ghedira, Herbal Phytothérapie anti-infectieuse, Paris, 2012. p 73-77

[31] Arvy MP, Gallouin F. Épices, aromates et condiments. Édition Clerc- Saint- Amand- Montrond. N d'édition : 003063-02.2007. France.

[32] Cusson C. L'Aromathérapie & Les huiles essentielles [Livre En ligne]. 2007 [consulté en Mars 2018]. Disponible sur : <http://www.doc-developpement-durable.org>

[33] Toure D. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'Ivoire. [Thèse]. Cote d'Ivoire, 2015.

[34] Zeraia L., 1983. Liste et localisation des espèces assez rares, rares et rarissimes. I.N.F. Alger. [35]Botineau M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. Pp: 1021-1043.

[36] Wink M., 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 3-19.

- [37] Schauenberg et Paris, (2006) Schauenberg P & Paris F. (2006) : *Guides Des Plantes Médicinales Analyse, Description Et utilisation de 400 plantes*. Edition delachaux et Niestlé, Paris, pp 33-34..
- [38] Maatoug, (1990) Maatoug, Février (1990). « *Nos plantes médicinales* ». Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie..
- [39] Khireddine Hamida. (2013) : *comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie*, Mémoire de Magister, option : Technologie Alimentaire , université Bougara-Boumerdes.
- [40] RTeuscher E., Anton R., et Lobstein A., (2005). *Plantes Aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles)*. Edition Tec et Doc. Paris. Edition. E.M. inter. Allemagne.
- [41] Ristic D., Brikic N.T & Zalfija. (1999): *salvia officinalis l*, Bric D (ed) institue for medicinal plants JosifPanacic. Belgrade and Art GrafikBelgrad , p 151-167
- [42] (Wolter, 2007) Wolters kluwer, (2007). *botanique pharmacognosie phytothérapie.1*, rus Eugène et Armand Peugeot. 92500 Rueil-Malmaison Ce.
- [44] Kalembe D. et Kunicka A. (2003). "Antibacterial and antifungal properties of essential oils." *Curr. Med. Chem.* 10(10): 813–829
- [45]-- Dutertre Julie & Marie-Joséphine. (2011) : *Enquête prospective au sein de la population*.
- [46] Laid Messai. (2011) : *Etude Phytochimique D'une Plante Medicinale De L'est Algérien (Artemisia Herba Alba)*, Université Mentouri Constantine, Faculté Des Sciences Exactes, Département De Chimie, p 69.
- [47] Deschepper, (1990) Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. En vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie
- [48] Said, O., Khalil, K., Fulder, S., Azaizels, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region ; *Journal of ethnopharmacology*, 83 :251-263.
- [49] Ben Kheder, (2017) M. R. Ben Khedher, S. Ben Kheder, I. Chaieb, et al., "Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia". *EXCLI Journal*, vol 16, pp 160-173. 2017
- [50] .Mohammed D arouich les remèdes à base de plantes médicinales se sont étendus aux érudits musulmans ,à l'organisation environnemental Sciences Technologies République arabe d'égypte
- [51]. FINIDORI CL. *Pathologie de la carie EMC* 1987, 23010 B10.
- [52]. HAIKEL Y. *Thérapeutique endopathogénique de la carie. EMC* 1993, 23010 A 30.

[53]. DIRECTION NATIONALE DE LA SANTE DU MALI DNS - N'Tomikorobougou – Bamako Plan stratégique national de santé bucco-dentaire 2004-2008 BP: 233;Tél : 2226497-2233352- Fax : 2223674.

[54]. PETERSEN P.E. Rapport sur la santé bucco-dentaire dans le monde 2003 : Poursuivre l'amélioration de la santé bucco-dentaire au 21ème siècle.

L'approche du programme OMS de santé buccodentaire, Genève.

http://www.who.int/oral_health/media/en/orh_report03.fr.pdf.

[55]. RAMDI D : Prévention de la maladie carieuse chez les enfants et l'économie de la santé Thèse chirurgie dentaire – Bordeaux II 1982.pp 23

[56]. INTERNET www.google.fr Un article de Wikipédia, l'encyclopédie libre

[57] De Gérard Debuigne et François Couplan . Petit Larousse des plantes médicinales. Franc. 2009.p 120-214

[58] Kolenbrander P.E. (2000). "Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems 1." Annual Rev. Microb. 54(1): 413–437.

[59]Gracieux P., Robert J.C. et Bonnaure–Mallet M. (2006). Les biofilms buccaux. Microbiologie en odonto–stomatologie. Chardin H., Barsotti O. etBonnaure–Mallet M. Paris: France, Maloine: 141–160.

[60] Hojo K., Nagaoka S., Ohshima T. et Maeda N. (2009). "Bacterial Interactions in Dental Biofilm Development." J. Dent. Res. 88(11): 982–990.

[61] Boucher Y. Parodontites apicales et mauvais traitements endodontiques. Revue d'odonto-stomatologie. 2005;34(3):205-17..

[62] Ragot JP. Stomatites infectieuses. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). 1999;5p

[63]. Clauzade M-A, Clauzade N. Dents et performance sportive: [Équilibration occlusale - Traitement - Conseils aux sportifs]. In Paris: Chiron; 2012. p. 82.

[61]. Société Française de Chirurgie Orale. Prise en charge des foyers infectieux bucco-dentaires. Médecine Buccale Chirurgie Buccale. août 2012;18(3):251-314.

[62]. Ragot JP. Stomatites infectieuses. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). 1999;5p.

[63]Schilder H. (1974). "Cleaning and shaping the root canal." Dent. Clin. North. Am. 18: 269– 296.

[64] <https://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/infection-bucco-dentaire>

[65] Prescription des antibiotiques en pratique bucco-dentaire. Recommandations. Afssaps. Juillet 2011.

[66] <http://www.ameli-sante.fr/abcès-dentaire/definition-causes-et-symptomes-de-labcès-dentaire.html> - consulté le 07/04/2015

[67] <http://www.ameli-sante.fr/maladie-des-gencives/la-maladie-des-gencives-definition-causes-et-symptomes.html> - consulté le 07/04/2015

[68] Mutai C, Bii C, Abatis D, Roussis V- Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes- Journal of Ethnopharmacologie ; doi : 10.2016/ jep.02.007.2009.

[69] Djeddi S, Bouchenah N, Settar I- Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Rosmarinus officinalis* from ALGERIA- Chemistry of Natural Compounds; vol.43:N)4.2007.

[70] Simple-hydrodistillation [en ligne]. Consulté en Juin 2018. disponible sur: www.researchgate.net.

[71] Boutamani.M. Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger, 2013. [En ligne]. [Consulté en Juin 2018]. Disponible sur: www.memoireonline.com

[72] Bousbia N. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. [Thèse]. Alger. Ecole nationale supérieure agronomique, 2011

[73] Elhaib A. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique [thèse] Toulouse : Université de Toulouse. 2011.

[74] GUERROUF .A Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA FACULTE DES SCIENCES APPLIQUEES DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCÉDES . 2017

[75] Thomas. B IMPACT DES FOYERS INFECTIEUX BUCCO-DENTAIRE SUR LES TENDINOPATHIES [THESE] UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE DE LILLE FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE. 2016