

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

– جامعة أبو بكر بلقايد تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de BIOLOGIE

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

MÉMOIRE

Présenté par

Moumene Fatiha

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques, **Spécialité** : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude de la flore microbienne de la cavité
buccale chez les enfants de la région de Ghazaouet

Soutenu le 03/07/2024, devant le jury composé de :

Présidente	Mme Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	M. Seghir Abdelfettah	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Bouhafsi-Merghache Djamila	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Hassaine-Lahfa Imane	MAB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024

ملخص

يُعد تجويف الفم نظاماً بيئياً معقداً حقاً، فهو موطن لأكثر من ألف نوع بكتيري مختلف. يمكن لبعضها أن يسبب مشاكل في الفم مثل تسوس الأسنان الشائع لدى الأطفال. تهدف هذه الدراسة إلى عزل بعض الخمائر والبكتيريا موجبة وسالبة الجرام من تجويف الفم. ويتضمن هذا العمل أيضاً اختبار تأثير وفعالية زيت القرنفل العطري على تثبيط تكوين الأغشية الحيوية لبعض المجهرات و هي *K. pneumoniae*, *Staphylocoque hémolytique* et *Candida Parapsilosis*.

على مدار خمسة أشهر، بين نوفمبر 2023 ومارس 2024، أخذنا عينات من أطفال أصحاء تتراوح أعمارهم بين 2 و16 عامًا في مدينة غزوات ونواحيها. أظهرت النتائج أن القرنفل له نشاط جيد مضاد للميكروبات ضد السلالات التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية: تجويف الفم، عدوى ، زيت القرنفل، الغشاء الحيوي، *K. pneumoniae*, *S. hémolytique* et *C. Parapsilosis*.

Résumé :

La cavité buccale est un véritable écosystème complexe, abritant plus d'un millier d'espèces bactériennes différentes. Parmi elles, certaines peuvent causer des problèmes buccodentaires tels que les caries dentaires, qui sont courantes chez les enfants. Le but de cette étude est d'étudier la composition de la flore microbienne dans la cavité buccale. De plus, nous avons testé l'effet et l'efficacité de l'huile essentielle des clous de girofle sur l'inhibition de la formation de biofilms in vitro de *K. pneumoniae*, *Staphylocoque hémolytique* et *Candida parapsilosis*. Pendant une durée de cinq mois, entre novembre 2023 et mars 2024, nous avons réalisé des prélèvements sur des enfants en bonne santé âgés de 2 à 16 ans à Ghazaouet. Les résultats obtenus ont montré une bonne activité antimicrobienne des clous de girofle vis-à-vis des souches testées.

Mots-clés : Cavité buccale, infection buccodentaire, *K. pneumoniae*, *S. hémolytique* , *C. Parapsilosis*, l'huile essentielle de Clou de girofle, biofilm.

Abstract:

The oral cavity is a truly complex ecosystem, harboring more than a thousand different bacterial species. Among them, some can cause oral health problems such as dental caries, which are common in children. The aim of this study is to examine the composition of the microbial flora in the oral cavity. Additionally, we tested the effect and efficacy of clove essential oil on the inhibition of biofilm formation in vitro by *K. pneumoniae*, hemolytic *Staphylococcus*, and *Candida parapsilosis*. Over a period of five months, from November 2023 to March 2024, we collected samples from healthy children aged 2 to 16 years in Ghazaouet. The results obtained showed good antimicrobial activity of clove essential oil against the tested strains.

Key words: Oral cavity, oral infection, *K. pneumoniae*, *S. haemolyticus* , *C. Parapsilosis*, Clove essential oil, biofilm.

Dédicace

C'est avec un immense plaisir et une profonde joie que je dédie mon travail

À mes très chers parents, qui m'ont soutenue tout au long de ma vie.

Chers parents, si je suis ici aujourd'hui, c'est grâce à vous ! Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez donnés depuis mon enfance, et j'espère que vos bénédictions m'accompagneront toujours.

À mon cher fiancé,

À mon petit frère et mes chères sœurs,

À mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses, mes chers cousins et cousines,

À tous les membres de ma grande famille et de ma belle-famille,

À toutes mes amies.

Moumene Fatiha

Remerciements

La réalisation de ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude :

Monsieur Seghir Abdelfettah, Maître de conférences classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour son aide précieuse.

Madame Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance et pour l'ensemble de ses enseignements.

Madame Bouhafsi-Merghache Djamila, Maître de conférences classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Madame Hassaine-Lahfa Imane, Maître assistant classe B au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté de faire partie de ce jury

Madame Bekhchi Chahrazed, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour son aide si précieuse.

Mademoiselle Laouedj Nadia et Mademoiselle Lakhel Hafssa, doctorantes en biochimie, pour leur aide précieuse et leurs encouragements bienveillants.

À tous ceux qui nous ont soutenus de près ou de loin dans la réalisation de ce projet.

Sommaire :

Première partie : Synthèse bibliographique	2
Deuxième partie : Matériel et méthodes	8
1. Prélèvements	8
2. Isolement et purification.....	8
3. Identification des souches.....	9
4. Extraction de l'huile essentielle de Clou de Girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	9
5. Aromatogramme	10
6. Inhibition des biofilms	10
6.1. Préparation des inocula	10
6.2. Préparation de l'extrait de l'huile essentielle.....	10
6.3. Inhibition de la formation des biofilms mono et multi-espèces.....	11
7. Mesure de la biomasse des biofilms par coloration au Crystal violet.....	11
Troisième partie : Résultats et discussion	13
1. Prélèvements.....	13
1.1. Analyse de la distribution des prélèvements positifs selon le sexe	14
1.2. Répartition des enfants en fonction de la consommation des sucreries.....	15
1.3. Distribution des enfants en fonction de l'état de santé de leurs dents.....	16
1.4. Répartition des enfants en fonction des tranches d'âges.....	17
1.5. Répartition des enfants selon la fréquence de brossage des dents.....	18
1.6. Répartition des enfants selon le type des dentifrices utilisés.....	19
1.7. Répartition des enfants en bonne santé et des enfants atteints de maladies chroniques...	20
1.8. Répartition des enfants en fonction de consommation d'antibiotiques.....	21
1.9. Identification préliminaire des microorganismes.....	22
2. Le rendement d'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle « <i>Syzygium aromaticum</i> ».	23

3. Aromatogramme.....	24
4. Activité anti-biofilm de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	24
Quatrième partie : Conclusion.....	30
Cinquième partie : Références bibliographiques.....	32
Sixième partie : Annexes.....	40

Liste des tableaux

Tableau N°1 : Répartition des enfants en fonction de consommation des sucreries.....	15
Tableau N°2 : Répartition des enfants selon la fréquence quotidienne du brossage des dents...	18
Tableau N°3 : Les différents types et marques de dentifrices utilisés par les enfants.....	19
Tableau N°4 : Identification préliminaire des microorganismes.....	22
Tableau N°5 : Calcul du rendement d'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	23
Tableau N°6: l'activité antimicrobienne de Clou de Girofle « <i>Syzygium aromaticum</i> ».....	24

Liste des figures

Figure N°1 : Microbiome buccal et maladies bucco-dentaires.	3
Figure N°2 : Les différentes populations de microbiote présentes dans les différentes parties de la cavité buccale.....	4
Figure N° 3 : L'extraction de Clou de Girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>) dans un hydrodistillateur...9	
Figure N°4 : Pourcentage de prélèvements positifs.....	13
Figure N°5 : Répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe.....	14
Figure N°6 : Répartition des enfants en fonction de l'état de santé de leurs dents.....	16
Figure N°7 : Répartition des enfants en fonction des tranches d'âges.....	17
Figure N°8 : Répartition des enfants en bonne santé et des enfants atteints de maladies chroniques.....	20
Figure N°9 : Répartition des enfants en fonction de la consommation d'antibiotiques	21
Figure N°10 : Activité anti-biofilm de l'huile essentielle de clou de girofle.....	26

Liste des abréviations

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

PBS : Phosphate-Buffered Saline

TSB : BD Tryptic Soy Broth

TSI : Triple Sugar Iron Agar

DO : Densité Optique

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé

% : Pourcentage

HE : Huile Essentielle

RHE : Rendement De L'huile Essentielle



Première partie
Synthèse bibliographique

La cavité buccale est un environnement fascinant qui abrite une grande variété de microorganismes qui vivent en communautés organisées et sont capables de coloniser les surfaces. Ces structures sont appelées « biofilms », terme introduit par Costerton et ses collaborateurs en 1999 (**Lewis, 2001; Daep et coll., 2010**).

Les microorganismes qui peuplent la cavité buccale sont d'une grande diversité, comprenant des bactéries, des champignons, des mycoplasmes, des protozoaires, et parfois même une flore virale (**Samarnayake, 2006**). Leur présence revêt une importance cruciale pour la santé bucco-dentaire et pour l'équilibre de la communauté microbienne humaine (**Zarco et coll., 2012**). En effet, la microbiologie bucco-dentaire est intimement liée aux processus inflammatoires buccaux et peut même contribuer au développement de pathologies systémiques (**Han et Wang, 2013**).

Le développement des micro-organismes est conditionné par une multitude de facteurs en perpétuelle évolution. Parmi ceux-ci, on peut citer l'humidité ambiante, la température, le pH et la disponibilité des nutriments. Ces facteurs varient en fonction de l'individu, de sa santé buccale et de son alimentation (**Chardin et coll., 2006 ; Philip et coll., 2009**).

Selon les recherches du National Institutes of Health (NIH), plus de 80 % de toutes les infections microbiennes sont liées à la formation de biofilm. Cela inclut les infections bucco-dentaires, telles que la carie dentaire, les parodontopathies, la perte des dents, ainsi que les cancers des lèvres (**Lewis, 2001 ; Wachtler, 2011**). Les chercheurs ont découvert une possible association entre les microbiomes buccaux et les changements génétiques dans le carcinome épidermoïde de la cavité (**Yang et coll., 2018**) (**Fig. 1**).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2012, les caries dentaires sont considérées comme la quatrième maladie la plus courante à l'échelle mondiale. Les caries dentaires sont une maladie multifactorielle qui se caractérise par la déminéralisation acide de l'émail dentaire. Les principales responsables de cette dégradation sont les bactéries cariogènes, telles que les *Streptococcus mutans* et les *Streptococcus sobrinus*, qui produisent des acides organiques (**Marsh, 2004**).

Des virus ont également été découverts dans la cavité, mais leur présence est généralement considérée comme pathologique. Au cours de la dernière décennie, seules quelques publications ont abordé le virome oral, contrairement au microbiome oral qui suscite un intérêt considérable (**Pride et coll., 2012**).

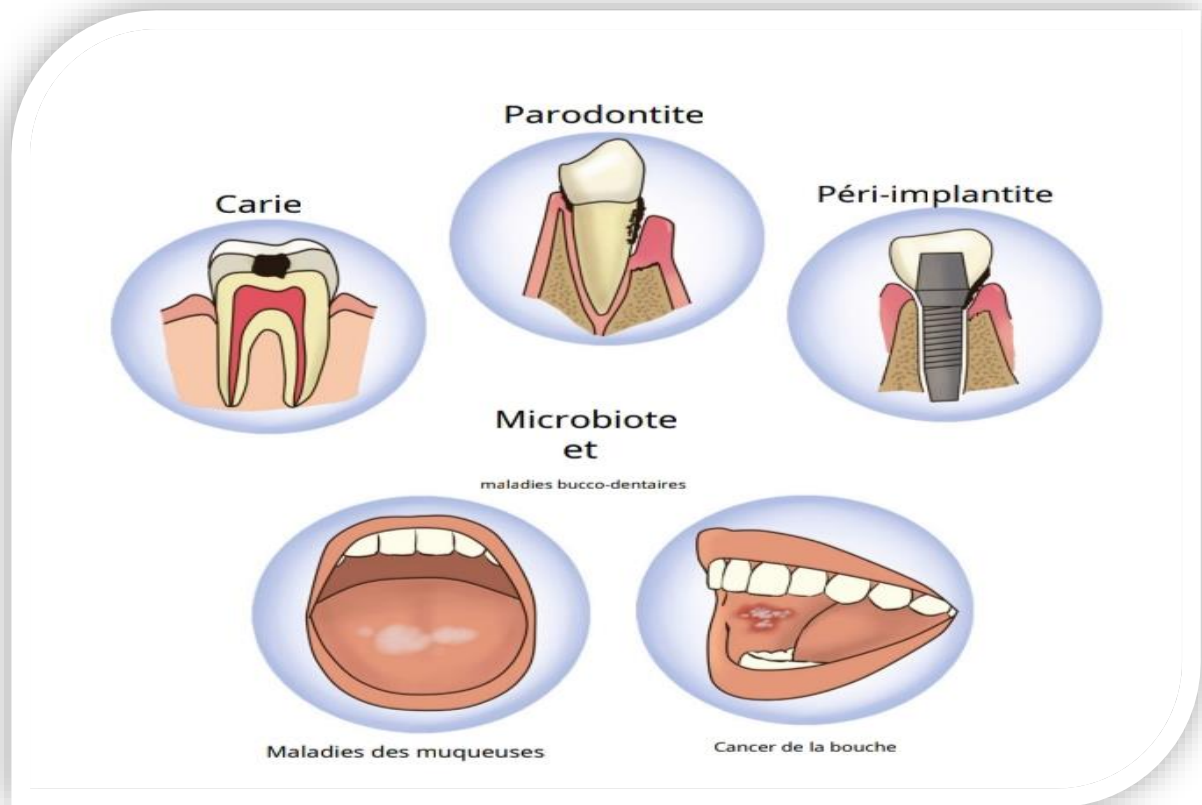


Figure 1 : Microbiome buccal et maladies bucco-dentaires.

Un déséquilibre peut se produire dans la cavité en raison de facteurs tels que la prise d'antibiotiques, une alimentation riche en sucre et une altération des défenses de l'organisme. Ce déséquilibre, appelé "dysbiose", modifie la composition du biofilm et augmente le risque de maladies bucco-dentaire. **(Marsh ,2003; Marsh et devine, 2011).**

La théorie de l'infection focale buccale n'a pas reçu suffisamment d'attention et de soutien théorique. Cependant, grâce aux avancées de la recherche sur le microbiome, on a étudié l'association entre les microbes buccaux et diverses maladies chroniques humaines, comme les maladies inflammatoires de l'intestin, les cancers, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer et le diabète. **(Read et coll., 2021 ; Tuominen & Rautava, 2021 ; Li et coll., 2021).**

De plus, les changements dans le microbiote buccal lors de maladies systémiques sont progressifs et reproductibles. Par conséquent, les bactéries présentes dans la cavité peuvent refléter en temps réel la santé humaine et l'état de la maladie, ce qui est crucial pour détecter précocement les risques de maladie et prédire les effets curatifs. Il y a plus de 700 types de micro-organismes qui colonisent la cavité buccale humaine. Le microbiome buccal est l'une des

communautés microbiennes les plus importantes et complexes du corps humain (**Turnbaugh et coll., 2009 ; Xian et coll., 2018**).

La différence entre les différentes zones de la cavité buccale contribue à la diversité du microbiote oral. Par exemple, la composition bactérienne de la plaque dentaire varie entre la région supragingivale et sous-gingivale. De plus, la salive contient des bactéries provenant de différentes parties de la cavité, notamment de la muqueuse de la langue. Il est important de mieux comprendre cette complexité pour étudier les liens potentiels entre le microbiote buccal et la santé générale (**Yamashita ; Takeshita ,2017 ; Hoare ; et coll., 2017**) (**figure2**).

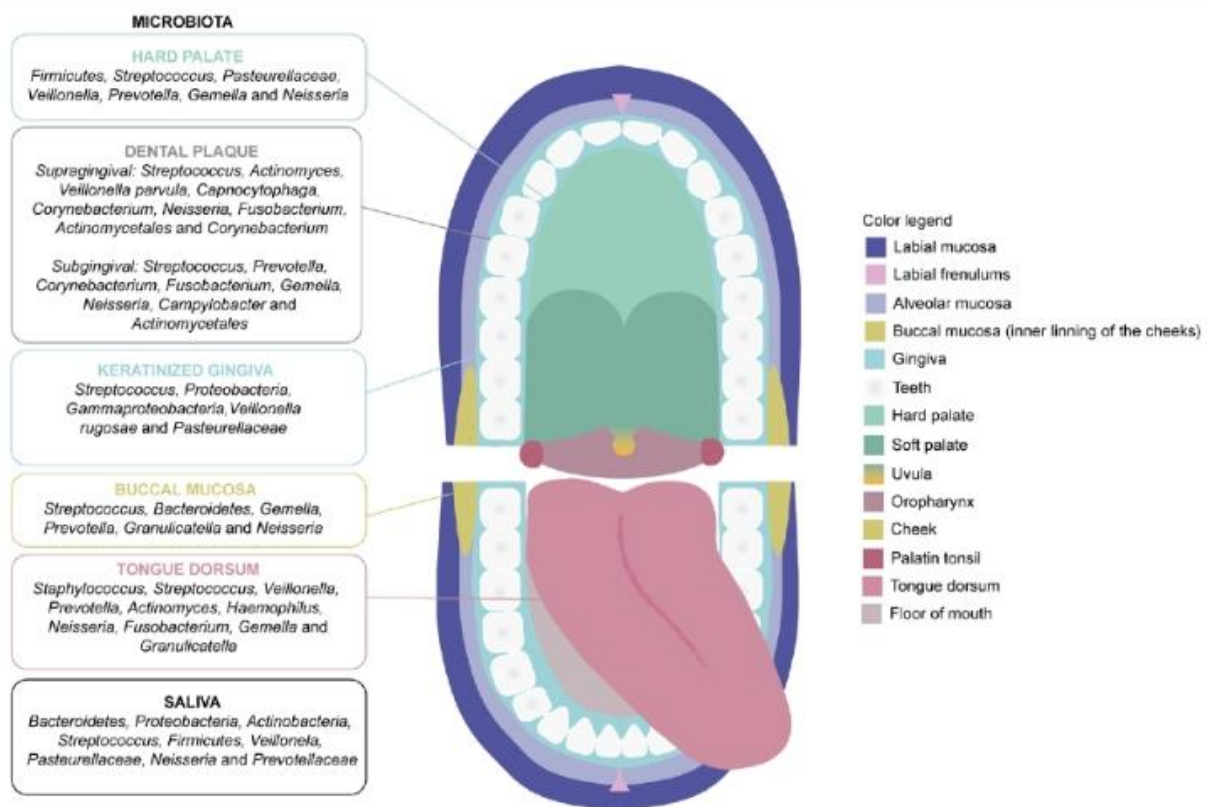


Figure 2: Les différentes populations microbiennes présentes dans les diverses parties de la cavité buccale

La flore buccale se développe dès la naissance et devient plus diversifiée avec l'éruption dentaire, comprenant des bactéries coques à Gram + (comme *Streptococcus* sp) et des bactéries bacilles à Gram - (comme *Fusobacterium* sp, *Prevotella*, *Porphyromonas*) (**Giordano-Kelhoffer et coll., 2022**).

Les microorganismes sont responsables de diverses maladies, et leur résistance croissante aux antibiotiques est préoccupante. Pour contrer ce phénomène, il est crucial d'explorer d'autres approches pour traiter les maladies sans recourir aux produits synthétiques. Ainsi, l'utilisation de molécules bioactives d'origine végétale offre des solutions alternatives efficaces (**Vanden Berghe et Vlietinck, 1991**).

Les huiles essentielles, extraites de plantes médicinales et aromatiques, sont reconnues pour leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. De nombreuses huiles essentielles possèdent également des vertus antitoxiques, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. Plus récemment, certaines sont même étudiées pour leurs propriétés anticancéreuses (**Valnet , 2005 ; Haddouchi , Benmansour , 2008**).

En tenant compte de ces éléments précédents, nous avons entrepris cette recherche dans le but d'isoler et d'identifier des microorganismes présents dans la cavité buccale d'enfants de la région de Ghazaouet. Dans un second temps, nous avons évalué l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de clou de girofle sur la formation des biofilms par quelques microorganismes isolés.



Deuxième partie
Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire Antibiotiques Antifongiques de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

1. Prélèvements :

Les échantillons ont été recueillis sur une période de trois mois, de novembre 2023 à mars 2024, auprès de 27 enfants, âgés de 2 à 16 ans, vivant dans la région de Ghazaouet.

Pour chaque patient, nous avons utilisé un écouvillon stérile pour frotter les surfaces dentaires et de la muqueuse buccale. Nous avons également collecté des informations sur ces patients, telles que le sexe, l'âge et les antécédents médicaux (voir Annexe N°1.1).

Les écouvillons utilisés ont été placés dans des tubes stériles, auxquels nous avons ajouté 3 ml d'eau physiologique. Nous avons ensuite agité ces tubes au vortex pendant 2 minutes.

Ensuite, nous avons prélevé 100 μ L de chaque tube et les avons mélangés avec 900 μ L de milieux de culture (Bouillon Cerveau-Cœur « BHIB » ou Sabouraud liquide).

Enfin, nous avons incubé ces échantillons à 37°C pendant une période de 24 à 72 heures. Cette incubation permet aux bactéries et aux levures de se développer et de former un trouble visible à l'œil nu.

2. Isolement et purification des souches isolées:

À partir des échantillons présentant un trouble, des boîtes de pétri préalablement coulées avec de la gélose Chapman destinée à l'isolement des bactéries Gram-positives, de la gélose Mac Conkey pour l'isolement des bactéries Gram-négatives et de la gélose Sabouraud pour l'isolement des levures sont ensemencées par stries, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Ensuite, une colonie est prélevée de la gélose, repiquée dans un milieu liquide stérile et incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Chaque souche pure est ensemencée sur une gélose inclinée en tube, puis incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures et conservée à +4°C.

3. Identification des souches

L'identification a été réalisée par la coloration de Gram, le test TSI et la culture sur le Candida CHROM-Agar®, ainsi que par le système VITEK® VK2C17756.

4. Extraction de l'huile essentielle de Clou de Girofle (*Syzygium aromaticum*) :

Pour extraire l'huile essentielle, nous avons utilisé 233,4 g de clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) dans un réacteur, en employant la technique d'hydrodistillation avec l'appareil Clevenger, à l'aide d'un seul montage. Le processus a duré entre 2 et 4 heures dans le laboratoire de recherche « Produits naturels » (Figure 3)



Figure 3 : L'extraction de Clou de Girofle (*Syzygium aromaticum*) dans un hydrodistillateur

5. Aromatogramme :

À partir d'une culture de 24 heures, quelques colonies ont été prélevées et placées dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Ensuite, la densité optique a été ajustée à 10^8 UFC/mL en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 625 nm, qui devait être comprise entre 0,08 et 0,13 pour les bactéries. La concentration des levures a été ajustée à 10^6 UFC/mL en mesurant l'absorbance à 530 nm. La solution de culture bactérienne et fongique a été étalée sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Muller-Hinton.

Un disque de papier imbibé d'huiles essentielles a été placé sur la surface de la gélose. Après 24 heures d'incubation à 37 °C, le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré pour évaluer l'efficacité antimicrobienne et antifongique des huiles essentielles testées.

6. Inhibition des biofilms :

6.1. Préparation des inocula :

Les pré-cultures bactériennes (Gram+ et Gram-) sont préparées dans 1 ml de BHIB, tandis que les pré-cultures de levures le sont dans 1 ml de Sabouraud liquide, dans des tubes Eppendorf. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la suspension bactérienne est centrifugée trois fois à 1000 g pendant 15 minutes à 4°C. Le culot est lavé deux fois avec du PBS (pH 7,4, 0,1M), puis resuspendu dans le milieu de culture choisi pour former le biofilm à une concentration de 10^7 cellules/mL.

De même, la suspension fongique est centrifugée à 3000 g pendant 5 minutes à 4°C. Le culot est lavé deux fois avec du PBS (tampon phosphate salin) à pH 7,4, 0,1M, puis resuspendu dans le milieu de culture choisi pour former le biofilm à une concentration de 10^6 cellules/mL. Après ajustement, une dilution au 1/10 est réalisée dans le milieu TSB.

6.2. Préparation de l'extrait de l'huile essentielle :

Nous avons effectué une série de dilutions à partir d'une solution mère de 300 mg/ml afin d'obtenir 12 concentrations différentes. Pour un échantillon d'extrait d'huile de 297.65 µL, nous avons ajouté un mélange de DMSO et de Tween 80 (1:1) jusqu'à atteindre un volume total de 1 ml. Ensuite, nous avons prélevé 500 µL de cette solution et mélangé avec 500 µL de DMSO et de Tween 80 (1:1). Ce processus de dilution a été répété jusqu'à obtenir les 12 concentrations désirées.

Ensuite, nous avons procédé à une deuxième série de dilutions à un facteur de 1/25 en prélevant 80 μL de chaque tube de la première série et en ajoutant du TSB pour ajuster le volume total à 2 ml. Les concentrations finales obtenues dans les puits de la microplaque vont de 6 mg/ml à 0.003 mg/ml.

6.3. L'inhibition de la formation de biofilm :

Dans chaque puits d'une microplaque à 96 puits, 50 μL de la suspension ont été mélangés avec 50 μL de différentes solutions d'huile essentielle pour les biofilms mono-espèces. Pour les biofilms multi-espèces, 50 μL d'huile essentielle ont été combinés avec 50 μL répartis entre les suspensions bactériennes et fongiques. La plaque a ensuite été fermée et incubée à 37°C pendant 24 heures.

7. Mesure de la biomasse dans le biofilm par la coloration au Crystal violet :

Pour évaluer la quantité de biofilms formés, le milieu est retiré et les puits sont rincés trois fois avec une solution de PBS stérile (pH 7,4, 0,1 M) afin d'éliminer les cellules planctoniques et non adhérentes. Pour fixer le biofilm, 100 μL de méthanol sont ajoutés à chaque puits de la microplaque. Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante, les puits sont à nouveau lavés et 100 μL d'une solution de crystal violet sont ajoutés. Les microplaques sont ensuite laissées pendant 20 minutes à température ambiante pour permettre la fixation du cristal violet. Ensuite, le crystal violet lié est libéré par l'addition de 150 μL d'acide acétique (33%). La densité optique est mesurée à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Cette manipulation est répétée trois fois.



Troisième partie
Résultats et discussion

1. Prélèvements :

Entre novembre 2023 et mars 2024, nous avons effectué 27 prélèvements buccaux dentaires sur des enfants en bonne santé âgés de 2 à 16 ans, dont 15 garçons et 12 filles.

Les prélèvements ont été mis en culture sur les milieux Chapman, MacConkey et Sabouraud, et les résultats obtenus sont regroupés dans la Figure N°4.

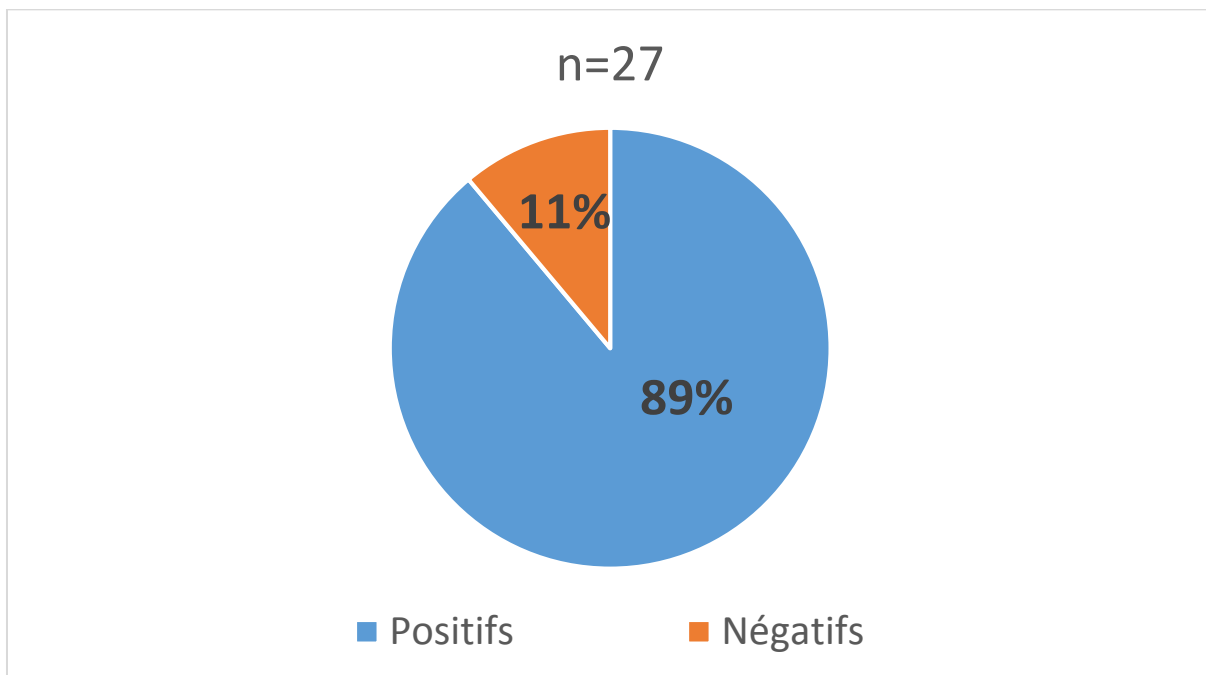


Figure N°4 : Pourcentage de prélèvements positifs

Dans notre étude, nous avons constaté que 89 % des enfants examinés présentaient des microorganismes dans la cavité buccale. Cela indique que la majorité des enfants sont potentiellement à risque d'infections bucco-dentaires dans certaines conditions que nous allons aborder au cours de cette étude.

Une étude réalisée par **Miyake et coll. (1991)** sur 307 enfants en bonne santé a montré que 84 % d'entre eux avaient des micro-organismes buccaux. Ce taux est similaire à celui que nous avons observé. En ce qui concerne les prélèvements négatifs, certains auteurs attribuent ces résultats à des facteurs liés aux patients, tels que les traitements antibiotiques, qui auraient pu limiter la croissance des micro-organismes dans la cavité buccale au moment des prélèvements (**Sixou et coll., 2004**).

1.1. Analyse de la distribution des prélèvements positifs selon le sexe :

Les résultats relatifs à la répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe sont présentés dans la figure N°5.

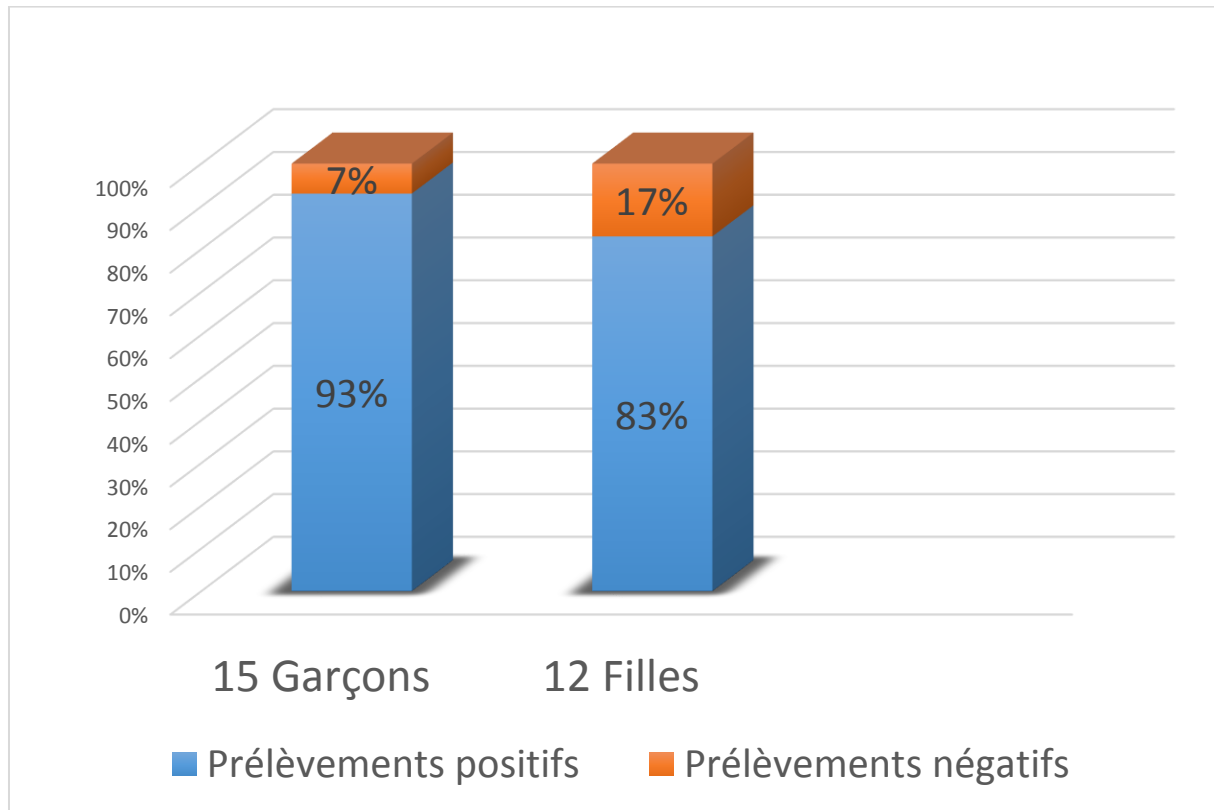


Figure N°5 : Répartition des prélèvements en fonction du sexe.

Cette répartition montre que le pourcentage de prélèvements positifs est plus élevé chez les garçons que chez les filles. Ces résultats concordent avec ceux de **Starr et ses collègues (2002)**, **Bakama et son équipe (2020)**, et **Zhang et ses collaborateurs (2018)**, qui ont démontré que la présence de flore microbologique est liée au sexe. Une autre étude menée au Sénégal **par Fall (2003)** a révélé que 59,8 % des prélèvements positifs provenaient de patients masculins. De plus, l'étude de **Kane et coll au Mali (2018)** a rapporté un taux similaire de 57,7 %.

1.2. Répartition des enfants en fonction de la consommation de sucreries :

Les résultats relatifs à la consommation de sucreries par les enfants sont affichés dans le tableau n°1 :

Tableau N°1 : Répartition des enfants en fonction de la consommation de sucreries.

Fréquence de consommation des sucreries	Nombre d'enfants avec (%) n=24
Tous les jours	14 (58%)
4 à 5 fois par semaines	6 (25%)
≤ 2 fois par semaines	4 (17%)

Nos résultats indiquent que 58 % des enfants consomment des sucreries quotidiennement, ce qui constitue un facteur de risque pour les infections bucco-dentaires. En effet, une alimentation riche en sucre favorise la croissance des microorganismes qui se nourrissent de glucides.

Les microorganismes décomposent les glucides et produisent des acides qui se propagent à travers la plaque dentaire. Ces acides dissolvent les phosphates de calcium, qui constituent la structure minérale de l'émail, de la dentine et du ciment. Par conséquent, la dent devient fragile et vulnérable (**Righetti, 2007**).

1.3. Distribution des enfants en fonction de l'état de santé de leurs dents:

Les résultats relatifs à la répartition des enfants en fonction de l'état de santé de leurs dents sont représentés sur la **figure N°6**.

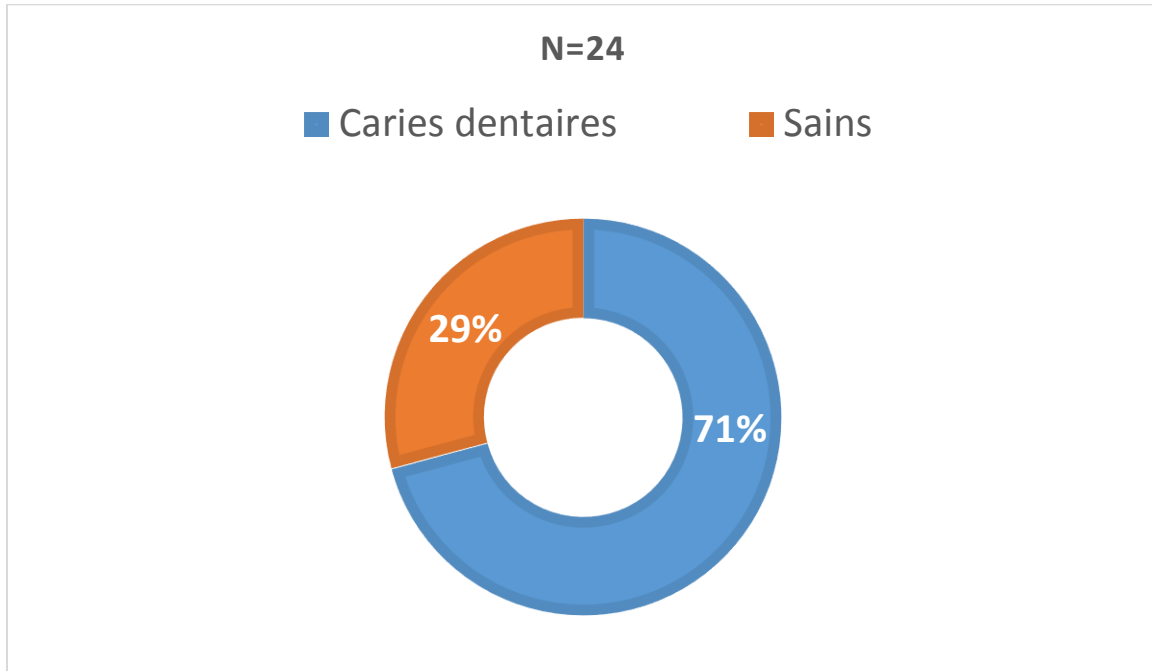


Figure N°6 : Répartition des enfants en fonction de l'état de santé de leurs dents.

D'après la figure précédente, il apparaît que la majorité des enfants étudiés souffrent de carie dentaire. En fait, selon **Bourgeois et coll. (2005)**, c'est la maladie la plus fréquente parmi les enfants. Il est également important de souligner que chaque individu a eu au moins une fois dans sa vie une carie dentaire, illustrant ainsi la prévalence de cette affection dans la population (**Badet et Richard, 2004**).

1.4. Répartition des enfants en fonction des tranches d'âges :

Les résultats concernant la répartition des enfants sains et des enfants atteints de caries dentaires selon les tranches d'âge sont illustrés dans la **figure N°7**.

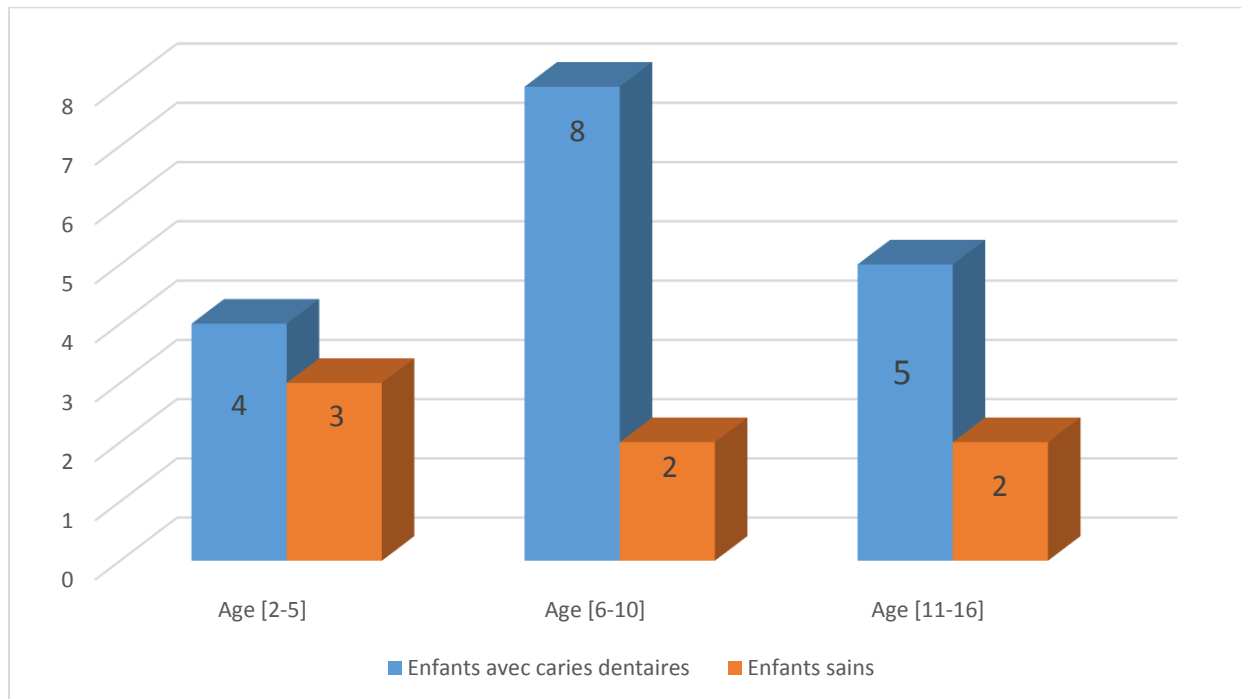


Figure N°7: Répartition des enfants en fonction des tranches d'âges

Les données de la figure N7 révèlent une prévalence significativement élevée de caries dentaires parmi les enfants âgés de 6 à 10 ans, alors que la majorité des enfants âgés de 2 à 5 ans n'en souffrent pas. Selon **TAHARI et ses collègues (2023)**, plus de 72 % des écoliers présentent une mauvaise hygiène bucco-dentaire. **L'OMS (2012)** estime que de 60 à 90 % des enfants en âge scolaire dans le monde sont affectés par les caries dentaires, soulignant ainsi l'ampleur de ce problème de santé publique.

1.5. Répartition des enfants selon la fréquence de brossage des dents :

Les données concernant la fréquence quotidienne du brossage des dents chez les enfants ont été recueillies et présentées dans le **tableau N° 2**.

Tableau N° 2 : Répartition des enfants selon la fréquence quotidienne du brossage des dents

Fréquence de brossage par jour (n=24)	Enfants avec carie n= 17	Enfants sains n= 7
Irrégulière	16 (94%)	2 (29%)
1 fois/jour	1 (6%)	4 (57%)
2 fois/jour	0 (0%)	1 (14%)

Selon les données du tableau précédent, il est notable qu'il existe une différence entre les enfants atteints de caries et ceux ayant une bonne hygiène bucco-dentaire. En effet, l'absence de caries chez les enfants peut être liée à leur pratique quotidienne du brossage des dents.

Une étude réalisée par **THIAM** en **1997** a mis en lumière que seulement environ 10,4 % de la population mondiale se brosse les dents deux à trois fois par jour. De plus, cette étude a souligné que ceux qui négligent ou brossent leurs dents de manière irrégulière présentent une accumulation de plaque dentaire.

1.6. Répartition des enfants selon le type de dentifrices utilisés :

Le Tableau N°3 présente la répartition des enfants selon les différents types de dentifrices qu'ils emploient.

Tableau N°3: Les différents types et marques de dentifrices utilisés par les enfants.

Marques de dentifrices	Nombre d'enfants utilisateurs	Enfants utilisateurs présentant des caries
Colgate [®] (Fluoré)	10	5 (50%)
Signal [®] (Fluoré)	9	7 (78%)
Extra Kids [®] (Non Fluoré)	5	5 (100%)

D'après les données du tableau précédent, il est clair que la majorité des enfants utilisent un dentifrice contenant du fluor. Des recherches menées par **Kerebel** et ses collègues en **1985** ont montré une amélioration notable de la santé bucco-dentaire.

Cette amélioration est principalement attribuée à l'augmentation du niveau de vie, à la généralisation de l'utilisation des dentifrices fluorés, ainsi qu'à l'adoption de mesures préventives. En **2007**, l'**Institut national de santé publique du Québec** a souligné l'efficacité du fluor, en mettant en avant la formation d'une couche protectrice de fluorure de calcium sur les dents. De plus, une étude menée par **Ingegerd et coll. en 2015** a démontré que l'apport optimal en fluor est efficace pour prévenir la carie dentaire.

1.7. Répartition des enfants en bonne santé et des enfants atteints de maladies chroniques

Les résultats relatifs à la répartition des enfants en bonne santé et de ceux atteints de maladies chroniques sont illustrés dans la figure N°8.

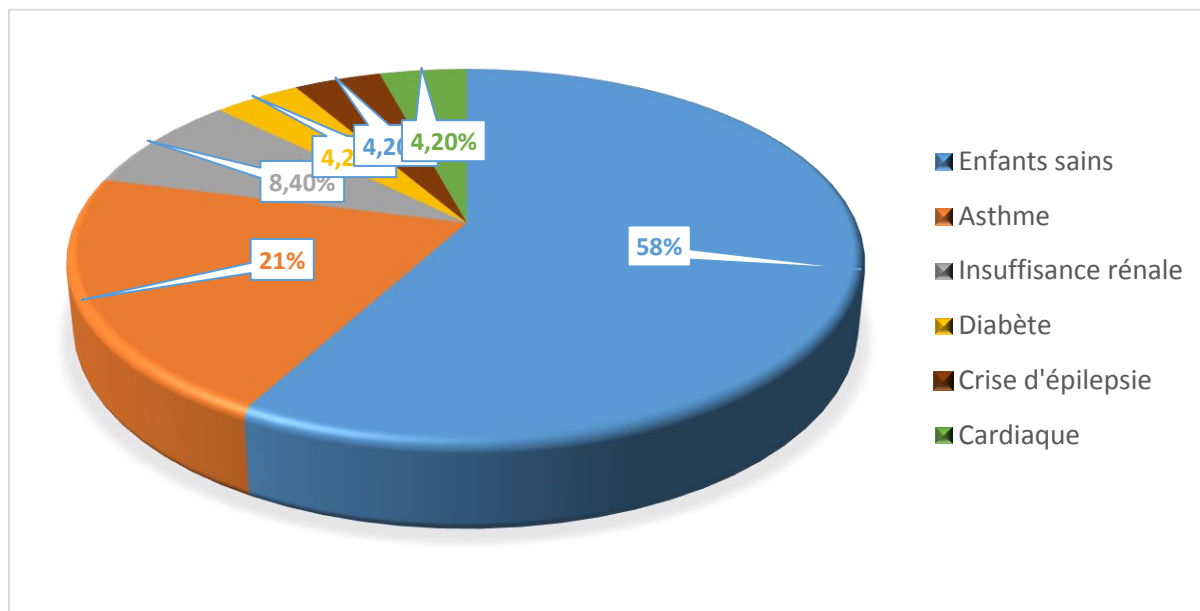


Figure N°8 : Distribution des enfants en bonne santé et des enfants atteints de maladies chroniques.

À partir des résultats précédents, nous pouvons voir que les enfants sains sont majoritaires parmi nos sujets étudiés (58%). En ce qui concerne les enfants atteints de maladies chroniques (42%), la plupart d'entre eux sont asthmatiques (21%).

Les micro-organismes de la cavité buccale peuvent affecter le traitement des maladies chroniques. En effet, le déséquilibre de la flore buccale peut entraîner des infections provoquant une inflammation générale, ce qui peut aggraver les maladies chroniques ou rendre leur traitement plus difficile (**Babajko et coll., 2020**). Au cours de la seconde moitié du XXe siècle, une augmentation du nombre d'enfants asthmatiques a été observée dans la plupart des pays occidentaux, notamment chez les enfants d'âge scolaire et les jeunes adultes (**Magnus et Jaakkola, 1997; Wieringa et coll., 2001; Eder et coll., 2006**).

Une autre étude révèle que les maladies cardiaques sont significatives chez les enfants et souligne l'endocardite infectieuse comme une complication majeure. Il est important de noter que la cavité buccale peut être la principale voie d'entrée pour cette infection (**Lefèvre et coll., 2004**).

1.8.Répartition des enfants en fonction de la consommation d'antibiotiques:

Les résultats concernant la répartition des enfants selon leur consommation d'antibiotiques sont illustrés dans le graphique ci-dessous ;

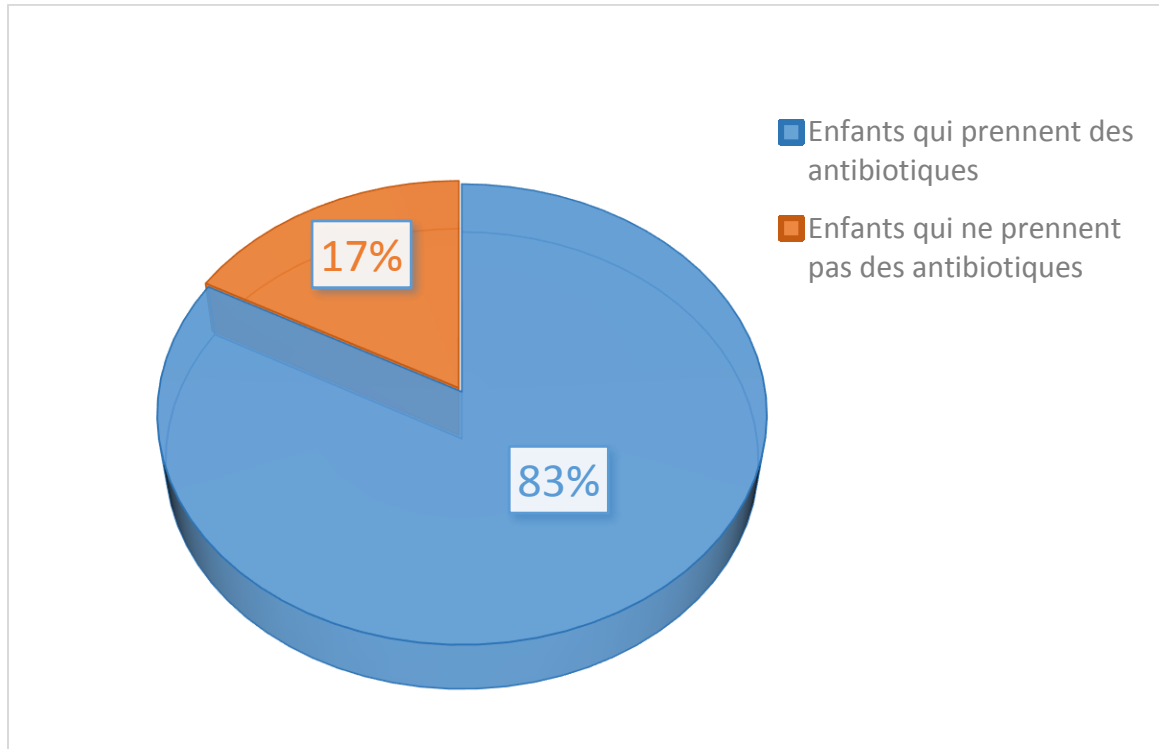


Figure N°9 : Répartition des enfants en fonction de la consommation d'antibiotiques

Selon nos résultats, une grande partie des enfants (83%) reçoivent des traitements antibiotiques.

Ces médicaments peuvent altérer la composition de la flore buccale et favoriser l'émergence d'une résistance chez certains microorganismes de la cavité buccale, posant ainsi un sérieux problème pour la santé. Cette résistance compromet l'efficacité des soins de santé, car un nombre croissant d'agents pathogènes deviennent insensibles aux antibiotiques (**Donkor et Kotey, 2020**).

1.9. Identification préliminaire des microorganismes

Les résultats de l'identification préliminaire des microorganismes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau N°4 : Identification préliminaire des microorganismes

	Nombre d'enfants : n=24 (%)
Bactéries à Gram ⁺	10 (42%)
Bactéries à Gram ⁻	0 (0%)
Levures	2 (8%)
Association : Gram ⁺ , Gram ⁻ et levures	4 (17%)
Association : Gram ⁺ , Gram ⁻	1 (4%)
Association : Gram ⁺ , levures	7 (29%)
Association : Gram ⁻ , levures	0 (0%)

D'après nos résultats, nous avons constaté que la majorité des patients présentaient des bactéries à Gram positif. De plus, une association entre les bactéries à Gram positif et les levures a été observée. En revanche, nous avons noté un faible pourcentage de bactéries à Gram négatif, toujours associées aux Gram positif.

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a établi une liste de pathogènes prioritaires, incluant certains classés comme des bactéries résistantes aux antibiotiques nécessitant de toute urgence des recherches et le développement de nouveaux traitements. Parmi ces pathogènes, les bactéries Gram positives sont particulièrement préoccupantes car elles peuvent causer des infections graves. Les bactéries multirésistantes (MDR) représentent également un problème majeur de santé nécessitant une attention particulière (Cornaglia, 2009 ; Asokan et coll., 2019).

Pour la suite de notre étude, nous avons sélectionné une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée chez un patient souffrant d'une maladie cardiovasculaire et hospitalisé en raison d'une infection généralisée par cette bactérie. De plus, chez ce même patient, nous avons également isolé une souche de *Staphylococcus haemolyticus* ainsi qu'une souche de *Candida parapsilosis*.

2. Le rendement d'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle « *Syzygium aromaticum* »

Le rendement en huile essentielle (RHE) est calculé en pourcentage comme étant le rapport entre la quantité de matière végétale utilisée et la quantité d'huile essentielle obtenue, selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (M'/M) \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en pourcentage.

M' : Masse de l'huile essentielle en grammes.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en grammes (**Belyagoubi, 2006**).

Le résultat obtenu est présenté dans le tableau ci-dessous :

Le tableau ci-dessous illustre le taux de rendement en huile essentielle extrait du clou de girofle :

Tableau N°5 : Calcul du rendement d'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Méthode d'extraction	Masse de plante sèche (g)	Masse des HE(g)	Rendements(%)
hydrodistillation	233.4 g	11.05 g	4.7 %

Nos résultats montrent que le rendement en huile essentielle des clous de girofle est de 4,7 %, calculé par rapport au poids du matériel végétal sec. Ce rendement est considéré comme élevé pour cette espèce. En effet, notre résultat est proche de celui rapporté par **Merghache** et ses collaborateurs (**2009**) qui ont obtenu un rendement de 4,2 %, et il est supérieur à celui rapporté par **Zwaving et Smith (1971)** qui ont obtenu un rendement de 2,95 %.

3. Aromatogramme :

Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice des huiles essentielles et des extraits en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque imprégné de ceux-ci, ou d'un produit à base des extraits. Les résultats sont classés dans le **Tableau N°6**.

Il est important de noter que la sensibilité des microorganismes aux huiles essentielles est évaluée en fonction du diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensibles : diamètre < 8mm
- Sensibles : diamètre entre 8mm et 14 mm
- Très sensibles : diamètre entre 15mm et 19 mm
- Extrêmement sensibles : diamètre \geq 20 mm (**Ouis, 2015**).

Tableau N°6 : l'activité antimicrobienne de Clou de Girofle « *Syzygium aromaticum* ».

	Diamètres (mm)	Sensibilité
<i>Staphylocoque hémolytique</i>	19 mm	Très sensible
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15 mm	Très sensible
<i>Candida parapsilosis</i>	20 mm	Extrêmement sensible

D'après les résultats présentés dans le tableau, nous constatons que les levures et les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'huile essentielle de clou de girofle que les bactéries à Gram négatif. En effet, selon certaines études, les huiles essentielles ont un effet moins marqué sur les bactéries à Gram négatif en raison de la composition de leur paroi cellulaire (**Toure, 2015**). Les extraits aromatiques agissent sur les souches fongiques d'une manière encore partiellement comprise. Selon certaines recherches, leur effet antifongique serait lié à une altération de la membrane cellulaire (**Hamoud et coll., 2009**).

4. Activité anti-biofilm de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) :

Les résultats illustrant l'effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur l'inhibition de la formation des biofilms mono- et multi-espèces sont représentés sur la figure N° 10 :

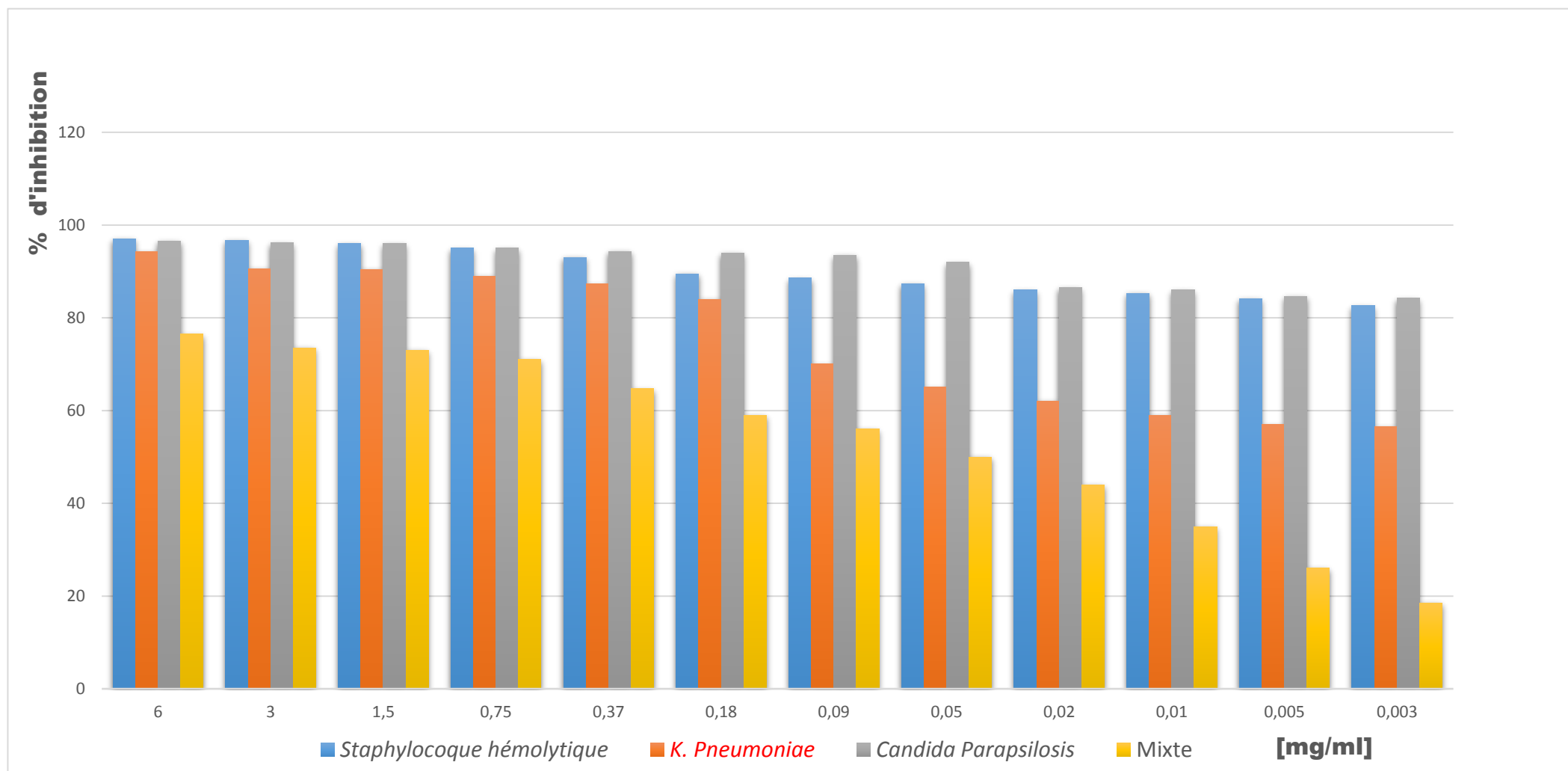


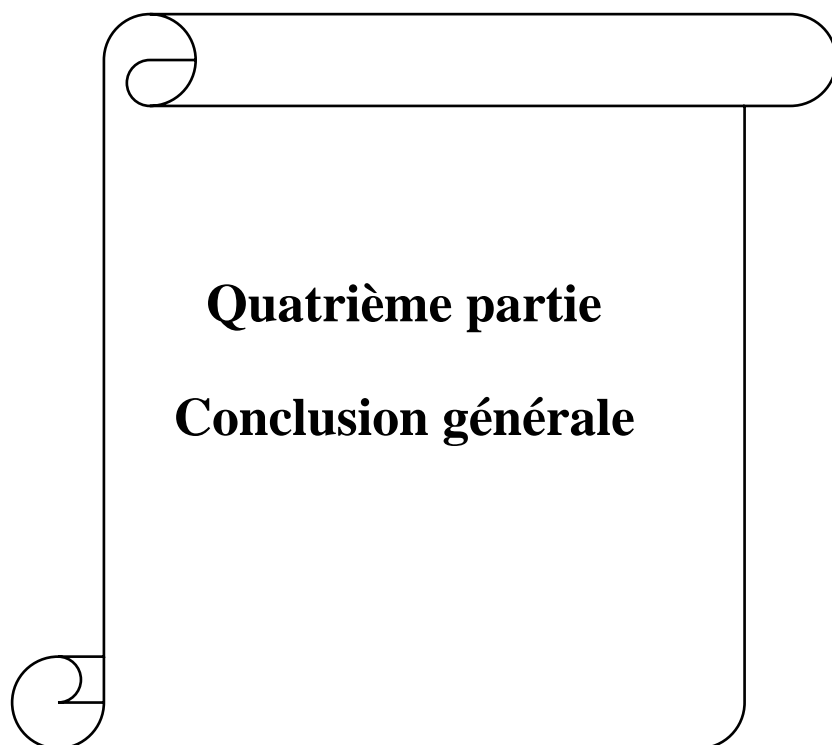
Figure N°10 : Activité anti-biofilm de l'huile essentielle de clou de girofl

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de clou de girofle inhibe de manière significative la formation de biofilms, notamment ceux formés par *Candida parapsilosis* et *Staphylocoque haemolyticus*, indiquant un effet comparable sur ces deux types de micro-organismes. Cependant, son effet inhibiteur est moindre contre *Klebsiella pneumoniae*.

Nous remarquons également que les biofilms multi-espèces formés par ces trois souches sont moins sensibles à l'huile essentielle, ce qui concorde avec des recherches démontrant une résistance accrue des biofilms multi-espèces aux agents antimicrobiens.

L'huile essentielle de clou de girofle est riche en eugénol, ce qui lui confère des propriétés bactéricides, fongicides et acaricides. Des études antérieures, notamment celles d'**Oussalaha et coll. (2007)** et de **Rhayour et coll. (2016)**, ont confirmé son activité antibactérienne puissante, principalement attribuée à l'eugénol. Par ailleurs, des recherches récentes comme celles d'**Afif et coll. (2018)** ont souligné l'efficacité des huiles essentielles, y compris celle de clou de girofle, contre des pathogènes tels que *Klebsiella pneumoniae*, mettant en lumière leur potentiel dans la lutte contre ces bactéries pathogènes.

Les huiles essentielles, riches en composés actifs, offrent des avantages uniques par rapport aux traitements conventionnels. Leurs propriétés peuvent être exploitées pour contrôler la croissance des microorganismes bucco-dentaires, comme l'a souligné **Yahyaoui (2020)**



La formation de biofilms sur les surfaces de la cavité buccale joue un rôle essentiel dans le développement des infections bucco-dentaires. Ce phénomène peut être accentué par une mauvaise hygiène buccale ou une maladie chronique, surtout face aux limites de l'utilisation des antibiotiques. Les études actuelles explorent l'utilisation d'agents antimicrobiens naturels, tels que les huiles essentielles, pour inhiber la formation des biofilms et réduire les risques d'infections bucco-dentaires.

Dans cette optique, nous avons entrepris une étude avec les objectifs suivants :

Avoir un aperçu de la composition de la flore buccale chez les enfants de la région de Ghazaouet.

Évaluer l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de clou de girofle sur des souches cliniquement intéressantes, à savoir *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylocoque hémolytique* et *Candida parapsilosis*, isolées de la cavité buccale d'un enfant souffrant de maladie cardiaque.

Les résultats obtenus ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- La consommation régulière de sucreries peut entraîner une augmentation des bactéries buccales qui se nourrissent de glucides, favorisant ainsi le développement de caries dentaires.
- La flore microbienne de la cavité buccale est principalement composée de bactéries à Gram positif.
- L'activité inhibitrice de l'huile essentielle de clou de girofle sur les biofilms de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylocoque hémolytique* et *Candida parapsilosis* s'est révélée prometteuse.

Pour réduire le risque de formation de biofilms bucco-dentaires, et en se basant sur les réponses obtenues grâce au questionnaire proposé aux parents des enfants, nous sommes en mesure de formuler les recommandations suivantes :

- Brosser les dents au moins deux fois par jour avec une brosse à dents adaptée à leur âge et un dentifrice fluoré.
- Limiter la consommation de sucreries et de boissons sucrées.
- Planifier des visites régulières chez le dentiste dès leur plus jeune âge.

Pour enrichir cette étude, il serait pertinent de :

- Augmenter la diversité de la population étudiée.
- Utiliser des techniques moléculaires pour caractériser les différentes souches.
- Examiner l'efficacité de l'huile essentielle de clou de girofle contre le biofilm dans divers environnements.



Cinquième partie
Références bibliographiques

1. **Afif Chaouche Thinina Arab, Karim Laoufi Razika, Malek Malya. (2018).** Inhibition du biofilm formé par *Klebsiella pneumoniae* responsable d'infection urinaire par l'huile essentielle et les polyphenols de *Lavandula officinalis*. Vol 02, No 02, pp 39-45.
2. **Asokan, G. V., Ramadhan, T., Ahmed, E., & Sanad, H. (2019).** WHO global priority pathogens list: a bibliometric analysis of Medline-PubMed for knowledge mobilization to infection prevention and control practices in Bahrain. *Oman medical journal*, 34(3), 184.
3. **Babajko, S., Lescaille, G., Radoi, L., Bui, A. T., Baaroun, V., Boyer, E., ... & Coumoul, X. (2020).** La sphère orale, cible et marqueur de l'exposition environnementale-II. Maladies diagnostiquées chez l'adulte. *médecine/sciences*, 36(3), 231-234.
4. **BADET.C, Richard. B. (2004).** Etude Clinique de la carie (Dental Caries). *EMCDentisterie*. Pp 40-48.
5. **Bakama L; Dilu F., Lelo, P., Kowe N., Bakambana G. and Songo F. (2020).** Manifestations buccales chez les enfants et adolescents infectés par le VIH à Kinshasa (RDC) et facteurs associés.
6. **Belyagoubi Larbi, M. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales (Doctoral dissertation, Thèse de magister. Dept B. Faculté de science. Université de Abou Bekr Belkaid. Telmcen).
7. **Boudjemaa NE et Ben Guegua H, (2010).** L'effet Antibactérien De (*Nigella Sativa*). Université Kasdi Merbah Ouargla.
8. **BOURGEOIS.D, LLODRACARLOS.J, NORBLAD.A. PITTS N. (2005).** A selection of essential oral health indicators. *Health surveillance in Europe*. Catalogue.
9. **Chardin H., Barsotti O., Bonnaure-Mallet M. (2006).** *Microbiologie en odontostomatologie*. Paris : éditions Maloine.
10. **Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H. (1985).** Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), 996-1006.
11. **Cohen a.R ,*, F. Thollot b, A. Lécuyer c, M. Koskas c, R. Touitou c, M. Boucherat c, P.d'Athis d, F. Corrard c, M. Pecking e, F. (2007)** de La Rocque c consequently to improve the management of influenza in children in ambulatory paediatric setting. © Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

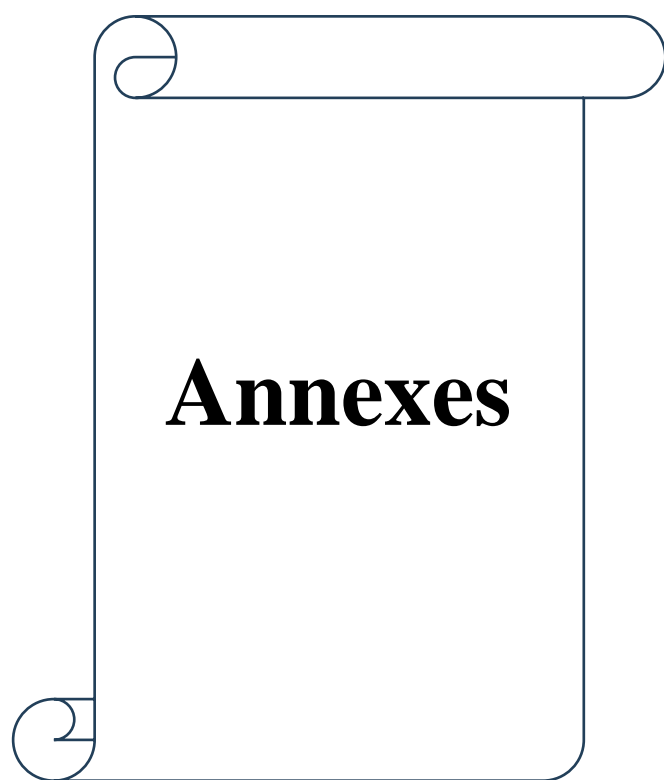
12. **Cornaglia, G. (2009).** Fighting infections due to multidrug-resistant Gram-positive pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(3), 209-211.
13. **Daep, C. A., Novak, E. A., Lamont, R. J., & Demuth, D. R. (2010).** Selective substitution of amino acids limits proteolytic cleavage and improves the bioactivity of an anti-biofilm peptide that targets the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Peptides*, 31(12), 2173-2178.
14. **DARMOND, (1965).** Le système d'évaluation de la plaque. *Information Dentaire*.
15. **Djossou D, Houngbegnon P. Kponon S, Javotte N. (2016)** Hygiène orale et carie dentaire : Enquête auprès de 191 étudiants sur le campus d'ABOMEYCALAVI (BÉNIN) *Rev Col Odonto-StomatolAfr Chir Maxillo-fac*, Vol 23, n°2, pp. 47-50.
16. **Donkor, E. S., Kotey, F. C. (2020).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: implications for antibiotic prophylaxis and surveillance. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 13, 1178633720976581.
17. **Eder W, Ege MJ, von Mutius E. (2006).** The asthma epidemic. *N Engl J Med* ; 355:2226—35
18. **Fall, T. M. (2003).** Evaluation des besoins en santé bucco-dentaire chez les enfants de fin de cycle primaire dse la commune de Diourbel.
19. **GARTNER. LP, HIATT.JL. (2009).** Atlas en couleur d'histologie 3eme édition française.
20. Ed Pradel, Lippincot Williams & Wilkins France. Pp 272- 274 -282.
21. **Gephart, P., R. G. E. Murray, W. A. Wood, and N. R. King. 1994.** *Methods for Genral and Molecular Bacteriology*, ASM Press, Washington DC. Hajna, A. A. 1945. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. *J. Bacteriol.* 49:516-517.
22. **Giordano-Kelhoffer B, Lorca C, March Llanes J, Rábano A, del Ser T, Serra A, et al. (2022)** Oral Microbiota, Its Equilibrium and Implications in the Pathophysiology of Human Diseases: A Systematic Review. *Biomedicines*. 10(8):1803.
23. **Goncalves GMS., Barros PP., Silva GHD et Fedes GR, (2019).**The essential oil of *Curcuma longa* rhizomes as an antimicrobial and its composition by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *J. Rev. Cienc. Med*, vol. 28(1), p: 1-10.
24. **Haddouchi F, Benmansour A. 2008.** Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Aplication à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire* : (8), 20-27.

25. **Hamoud, R., Sporer, F., Reichling, J., Wink, M. (2009).** Activity of traditionally used complex essential oil distillate in comparison to its individual essential oil ingredients. *Phytomedicine* p. 1-8
26. **Han et Wang. (2013).** Emergence, circulation, and spatiotemporal phylogenetic analysis of coxsackievirus a6-and coxsackievirus a10-associated hand, foot, and mouth disease infections from 2008 to 2012 in Shenzhen, China. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(11), 3560-3566.
27. **Haute Autorité de Santé (2010).** Stratégies de prévention de la carie dentaire [Internet]. Haute Autorité de Santé. France.
28. **Hoare, A. ; Marais, PD ; Diaz, PI (2017).** Opportunités thérapeutiques écologiques pour les maladies bucco-dentaires. *Microbiol. Spectre*. 5, 235-265.
29. **INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC. (2007)** Fluoration de l'eau : Analyse des bénéfices et des risques pour la santé-Avis scientifique, Québec, juin, 44 p.
30. **Kane, A. S. T., Diallo, B., Togo, A. K., Diarra, D., Maiga, A. S., Kamissoko, K., ... & Sangho, O. (2018).** Etat bucco-dentaire en milieu carcéral des détenus du centre de détention de Kangaba. *Mali Santé Publique*, 43-48.
31. **KEREBEL, LM., LE CABELLOC, MT., DACULSI, G. (1985).** Report on carie reduction in French school children 3 years after the introduction of a preventive program. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 13, 201-204.
32. **Lefèvre, M., & Guérin, P. (2004).** Endocardites de l'enfant et du petit enfant. *EMC-Cardiologie-Angéiologie* , 1 (3), 242-255.
33. **Li, Y., Cui, J., Liu, Y., Chen, K., Huang, L., & Liu, Y. (2021).** Oral, tongue-coating microbiota, and metabolic disorders: a novel area of interactive research. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8, 730203.
34. **Lewis, K. I. M. (2001).** Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(4), 999-1007.
35. **Lif Holgerson, P., Öhman, C., Rönnlund, A., & Johansson, I. (2015).** Maturation of oral microbiota in children with or without dental caries. *PloS one*, 10(5), e0128534.
36. **Magnus P, Jaakkola JJ. (1997).** Secular trend in the occurrence of asthma among children and young adults: critical appraisal of repeated cross sectional surveys. *BMJ* ; 314:1795–9.

37. **Mahfouf N, (2017).** Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse En Vue De L'obtention D'un Diplôme De Doctorat (Lmd). Université Chadli Benjedid – El Tarf, 202p.
38. **Marsh, P. D. (2003).** Plaque as a biofilm: pharmacological principles of drug delivery and action in the sub-and supragingival environment. *Oral diseases*, 9, 16-22.
39. **Marsh, P. D. (2004).** Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries research*, 38(3), 204-211.
40. **Marsh, PD et Devine, DA (2011).** Comment le développement des biofilms dentaires est-il influencé par l'hôte ? *Journal de parodontologie clinique*, 38, 28-35.
41. **MBACKE.F T. (2003).** Evaluation des besoins en santé bucco-dentaire chez les enfants de fin de cycle primaire de la commune de Diourbel. Thèse. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Pp 33-34.
42. **MERGHACHE Salima*, Mounia HAMZA et Boufeldja TABTI. (2009).** Département de chimie, Faculté des sciences, Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses, Université Abou Bekr Belkaid, B.P. 119.
43. **Miyake Y., Iwai T., Sugai M., Miura K., Suginaka H. et Nagasaka N. (1991).** Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* from the tongues of children. *Journal of Dental Research* 70: 1045-1047.
44. **Tahari, N., Fouatmia, M., Foundou, K., & SERRADJ, S. A. (2023).** Prévalence de la carie dentaire chez des enfants de 06 à 11 ans scolarisés dans une école primaire dans la région Ouest d'Oran.
45. **OMS (Organisation mondiale de la Santé). (2012).** Santé bucco-dentaire Aide-mémoire, Genève, N 318. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/fr/>
46. **Ouis N, (2015).** Etude Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Coriandre De Fenouil Et De Persil. Université D'oran 1, 239p.
47. **Oussalaha, M., Caillet, S., Saucier, L. et Lacroix, M. (2007).** Effets inhibiteurs d'huiles essentielles végétales sélectionnées sur la croissance de quatre bactéries pathogènes : *E. coli* O157 : H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. *Contrôle alimentaire* , 18 (5), 414-420.
48. **Philip D., Marsh and Michael V., Martin. (2009).** *Oral Microbiology*, fifth edition. S.I.: Churchill Livingstone Elsevier, Elsevier limited.
49. **Pothin CM. (2021).** Prévalence de la carie chez les enfants de 6ans, scolarisés à la Réunion [thèse]. U.F.R. D'ODONTOLOGIE.

- 50. Pride, DT, Salzman, J., Haynes, M., Rohwer, F., Davis-Long, C., White III, RA, ... et Relman, DA (2012).** Preuve d'une population résidente robuste de bactériophages révélée par l'analyse du virome salivaire humain. *La revue ISME* , 6 (5), 915-926.
- 51. RAISIN. (2008).** Surveillance des bactériémies nosocomiales en France. Résultats 2004. INVS, p 36.
- 52. Read, E., Curtis, MA & Neves, JF, (2021).** Le rôle des bactéries buccales dans les maladies inflammatoires de l'intestin. *Nat. Rév. Gastroenterol. Hépatol.* 18, 731-742.
- 53. Rhayour E., Dunman P. M., McAleese F., Macapagal D., Murphy E., Projan S.J., Blevin J. S., Smeltzer M. S. (2016).** Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Journal of Bacteriology.* 186 : 4665-4684.
- 54. RIGHETTI S. (2007).** Le pharmacien face aux infections bactériennes buccales. Thèse. Université Henri Poincaré - Nancy 1. P15.
- 55. Samarnayake L. 2006.** Microbiologie essentielle pour la dentisterie. 3e éd. Elsevier Health Sciences Royaume-Uni.
- 56. Sixou, J. L., Magaud, C., Jolivet-Gougeon, A., Bonnaure-Mallet, M., & Cormier, M. (2004).** Flore associée aux péri-coronarites des troisièmes molaires mandibulaires. Composition et sensibilité aux antibiotiques. *Médecine Buccale Chirurgie Buccale*, 10(1), 11-20.
- 57. Starr JR, White TC, Leroux BG, Luis HS, Bernardo M, Leitao J, Roberts MC (2002).** Persistence of *Candida albicans* carriage in healthy Portuguese schoolchildren followed for 3 years. *Oral Microbiol Immunol.* 17:304-310.
- 58. THIAM D. A. (1997).** Evaluation des besoins en soins dentaires et parodontaux chez l'adulte sénégalais âgé de 35 à 50 ans. Thèse Chirurgie Dentaire, Dakar, 33.
- 59. Toure D, (2015).** Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Medicinales De Côte D'ivoire. Université Felix Houphouët-Boigny, 153p.
- 60. Tuominen, H. & Rautava, J, (2021).** Microbiote oral et développement du cancer. *Pathobiologie* 88, 116-126.
- 61. Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunencko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., ... & Gordon, J. I. (2009).** A core gut microbiome in obese and lean twins. *nature*, 457(7228), 480-484.
- 62. Valnet J. Ed. Maloine S. A. ISBNE, 2005.** L'aromathérapie, 2-253- 03564-5.

- 63. Vanden Berghe D.A. & Vlietinck, A.J., 1991-** Screening for antibacterial and antiviral agents. In: Hostettmann, K. (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 6, Assays for Bioactivity. London, Academic Press, 47-59.
- 64. Wachtler, B., Wilson, D., & Hube, B. (2011).** Adhésion de *Candida albicans* aux cellules épithéliales vaginales, invasion et lésions de celles-ci : inhibition spécifique du stade par le clotrimazole et le bifonazole. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 55 (9), 4436-4439.
- 65. Wieringa, M. H., Vermeire, P. A., Brunekreef, B., & Weyler, J. J. (2001).** Increased occurrence of asthma and allergy: critical appraisal of studies using allergic sensitization, bronchial hyper-responsiveness and lung function measurements. *Clinical & Experimental Allergy*, 31(10), 1553-1563.
- 66. Xian, P., Xuedong, Z., Xin, X., Yuqing, L., Yan, L., Jiyao, L., ... et Ga, L. (2018).** La banque du microbiome oral de Chine. *Revue internationale de science orale*, 10 (2), 16.
- 67. YAHYAOU M., (2020).** Application Des Huiles Essentielles Dans Le Domaine Des Emballages Alimentaires. Thèse DOCTEUR EN CHIMIE ORGANIQUE, Université.El Manar, Tunis, 163p.
- 68. Yamashita, Y. ; Takeshita, T. (2017).** Le microbiome buccal et la santé humaine. *J. Oral Sci.* 59, 201-206.
- 69. Yang SF, Huang HD, Fan WL, Jong YJ, Chen MK, Huang CN, Chuang CY, Kuo YL, Chung WH, Su SC (2018)** Variations compositionnelles et fonctionnelles du microbiote oral associées aux changements mutationnels du cancer de la bouche. *Oncol oral* 77 : 1-8
- 70. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS (2012).** Le microbiome oral dans la santé et la maladie et l'impact potentiel sur la médecine dentaire personnalisée. *Dis oral* 18 (2): 109-120
- 71. Zhang W, Li Y, Lin J, Abduryim A and Zhao J (2018).** Cariogenicity of *Candida albicans* of distinct genotypes among 3-5-year-old Uygur children in Kashgar, China- a case control study. *BMC Oral Health* 18:203-211.
- 72. Zwaving.J.H, D. Smith, 1971.** Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*, *Phytochemistry*, Vol (10), Issue 8, Pages 1951-1953.



Annexe N°1.1 : Questionnaire médical

Code anonymat (.....)

Date à laquelle le questionnaire médical a été rempli : / /

Nom prénom :

1. Age :

2. Sexe :

Homme

Femme

3. Taille :

4. Poids

5. Composition fratrie (nombre d'enfants) :

6. Place de l'enfant dans la fratrie ?

7. votre ville ?

8. Age de la première visite chez un chirurgien-dentiste ?

9. A quand remonte le dernier examen dentaire?

1ère fois aujourd'hui

moins de 6 mois

moins d'un an

moins de 2 ans

- plus de 2 ans

10. Motif(s) de la consultation :

- Conseil / Information
- Détartrage
- Extraction
- Caries
- Orthodontie/ODF
- Autres motifs :.....

11. vous brossez vous les dents tous les jours ?

- Oui
- Non

12. A quelle fréquence vous brossez vous les dents par jours?

- Trois fois
- Deux fois
- Une fois
- jamais

13. combien de temps dure votre brossage de dents?

- 3 minutes
- 2 minutes
- 1 minutes
- Quelques secondes

14. Brossez-vous les dents sous la supervision de vos parents ? (notamment les enfants moins de 8 ans).

- Oui
- Non

15. Brossez-vous les dents par un dentifrice fluoré ?

Utilisez-vous un fil dentaire ?

- Oui

Non

16. Est-ce indispensable selon vous que chaque membre de la famille possède sa propre brosse à dents ?

Oui

Non

17. Consommez-vous des sucreries (bonbons, chocolat, sucre de table, miel, confiture, gâteaux...) ?

3 fois ou moins par semaine

4 à 5 fois par semaine

tous les jours

18. consommez-vous l des boissons sucrées (jus ou boissons aux fruits, boisson gazeuse ou énergisante, thé glacé, limonade...) ?

< 1 verre ou canette par jour

1 à 3 verres ou cannettes par jour

3 verres ou cannettes par jour

Rarement

19. Consommez-vous régulièrement des aliments acides : (d'agrumes, de tomates, de vinaigres....) ?

Oui

Non

20. Consommez-vous des produits laitiers (lait, fromage, petit-suisse, yaourt, beurre..) ?

Rarement

1 produit laitier par jour

2 produits laitiers par jour

3 produits laitiers par jour

Plus de 3 produits laitiers par jour

21. La carie dentaire est-elle selon vous une maladie infectieuse ?

- Oui
- Non

22. Pensez-vous qu'une carie dentaire puisse se transmettre d'une dent à une autre ?

- Oui
- Non

23. Les bactéries présentes dans votre bouche peuvent-elles entrer en contact avec la bouche de votre enfant?

- Oui
- Non

24. Avez-vous des animaux à votre maison ?

- Oui
- Non

Si oui lesquels.....

25. Avez-vous déjà eu une maladie bucco-dentaire?

- Oui
- Non

26. Si oui, laquelle?

- Caries
- Gingivites (Les saignements gingivaux en cours de brossage)
- Parodontites
- Aphtes
- Muguets

27. L'hygiène bucco-dentaire a-t-elle de l'importance pour vous?

- Oui

- Non

28. Avez-vous des problèmes de santé ?

- Diabète (type 1 ou type 2).
- Cardiaque
- Asthme
- Obésité
- Autres ; lesquels:.....
- Depuis combien de temps souffre-t-il de la maladie ?.....
- Quels médicaments sont pris ?.....
-
- La durée d'hospitalisation.....

29. Avez-vous pris des antibiotiques au cours du dernier mois ?

- Oui
- Non

Si oui lesquels :

30. Les antécédents familiaux révèlent-ils une forte susceptibilité aux caries ?

- Oui
- Non

Annexe N°1.2 : résultats de l'aromatogramme



Photo N°1 : Aromatogramme de *Staphylocoque hémolytique*



Photo N°2 : Aromatogramme de *Klebsiella pneumoniae*



Photo N°3 : Aromatogramme de *Candida parapsilosis*