



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE)



MÉMOIRE

pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie
option : Maîtrise de la Qualité Microbiologique et du Développement Microbien

Thème

L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale

par

Mr. Mohamed Amine Abdoune

soutenu le 23/05/2013
devant le jury composé de

Pr. Djamel Eddine Abdelouahid	Président	Professeur	UABT
Dr. Hafida Hassaïne	Examinatrice	Maître de conférences classe A	UABT
Dr. Hamadi Abderrahmane Lazouni	Examineur	Maître de conférences classe A	UABT
Dr. Mourad Bendahou	Promoteur	Maître de conférences classe A	UABT
Mme. Fadila Malek	Invité	Maître assistant chargée de cours	UABT

Année universitaire 2012-2013



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE)



MÉMOIRE

pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie
option : Maîtrise de la Qualité Microbiologique et du Développement Microbien

Thème

L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale

par

Mr. Mohamed Amine Abdoune

soutenu le 23/05/2013
devant le jury composé de

Pr. Djamel Eddine Abdelouahid	Président	Professeur	UABT
Dr. Hafida Hassaïne	Examinatrice	Maître de conférences classe A	UABT
Dr. Hamadi Abderrahmane Lazouni	Examineur	Maître de conférences classe A	UABT
Dr. Mourad Bendahou	Promoteur	Maître de conférences classe A	UABT
Mme. Fadila Malek	Invité	Maître assistant chargée de cours	UABT

Année universitaire 2012-2013

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail
à mes précieux parents
et à mon cher frère*

Mohamed Amine

Remerciements

Ce travail à été réalisé au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) sous la direction de monsieur M. Bendahou, maître de conférences classe A au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), Université de Tlemcen. Je tiens à lui formuler mes profondes reconnaissances et gratitude pour l'honneur qu'il a fait d'avoir accepté de diriger ce mémoire. Je le remercie pour l'aide et les conseils précieux qu'il n'a cessé de prodiguer tout le long du travail.

Je tiens à remercier monsieur D. E. Abdelouahid, professeur au Département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury.

Je formule mes sincères gratitude à madame H. Hassaïne, maître de conférences classe A au Département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également monsieur H. A. Lazouni, maître de conférences classe A au Département d'Écologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen d'avoir accepté d'être parmi les jurés afin d'examiner ce travail.

J'exprime infiniment mes fortes reconnaissances à madame F. Malek, maître assistant chargée de cours au Département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen pour son aide, ses précieux conseils et pour la chance qu'elle m'a offerte en assistant les manipulations sur les biofilms agroalimentaires.

Sans oublier aussi monsieur le directeur du laboratoire LAMAABE, le professeur B. Moussa-Boudjemâa pour tous ces conseils et son esprit de communication avec tous les gens au sein du laboratoire.

Je remercie aussi tous mes collègues au laboratoire étudiants et enseignants, et en particulier, F. Benbelaïd et A. Khadir, pour leur aide continu tout au long du travail, je les félicite de leur esprit d'équipe et je leur souhaite une bonne continuation.

Pour n'oublier aucune personne, je formule mes sincères remerciements à tous les gens qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale.

Les huiles essentielles de vingt espèces végétales récoltées dans la région de Tlemcen ont été testées sur la croissance et la formation de biofilms de cinq souches microbiennes connues par leur pathogénicité dans la cavité buccale. La plupart des huiles essentielles étaient actives surtout sur les bactéries à Gram positif et sur *Candida albicans*. Les huiles essentielles les plus actives étaient celles de *Thymbra capitata* (CMI = 0,31 mg/ml pour *C. albicans*) et d'*Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (CMI = 0,63 mg/ml pour *S. aureus* et *E. faecalis*). Les CMI de la formation de biofilms étaient généralement très faibles par rapport à celles de la croissance sauf pour *C. albicans* qui étaient semblables.

Mots-clés : huile essentielle ; croissance ; formation de biofilm ; pathogènes ; cavité buccale.

Abstract

Preventive effect of some essential oils against growth and biofilm formation of some oral pathogens.

Essential oils of twenty plant species harvested in the Tlemcen region were tested on growth and biofilm formation of five microbial strains known for their pathogenicity in the oral cavity. Most essential oils were active mainly on Gram-positive bacteria and *Candida albicans*. The most active essential oils were those of *Thymbra capitata* (MIC = 0.31 mg/ml for *C. albicans*) and *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (MIC = 0.63 mg/ml for *S. aureus* and *E. faecalis*). The MICs of biofilm formation were generally quite low compared to those of growth except for *C. albicans* which were similar.

Keywords: essential oil; growth; biofilm formation; pathogens; oral cavity.

ملخص

التأثير الوقائي لبعض الزيوت العطرية ضد نمو بعض الأحياء الدقيقة المسببة للمرض داخل التجويف الفموي وضد تشكل أشربتها الحيوية.

عشرون نبتة من منطقة تلمسان قد تم جنيها وتجربة زيوتها العطرية على خمس سلالات جرثومية معروفة بقدرتها على تسبب المرض داخل التجويف الفموي وذلك لمعرفة مدى إمكانية نموها وكذا إمكانية تشكيلها للأشربة الحيوية. كانت معظم الزيوت العطرية فعالة وخاصة ضد البكتيريا إيجابية الغرام وضد المبيضة البيضاء، حيث أن أكثرها فعالية كانت الزيوت العطرية لكل من الزعتر الرؤيسي (ت.م.أ = 0,31 مغ/مل للمبيضة البيضاء) والمردقوش الغديدي (ت.م.أ = 0,63 مغ/مل لكل من العنقودية الذهبية والمعوية البرازية). كانت التراكيز المثبطة الدنيا لتشكل الأشربة الحيوية جد منخفضة على العموم بالمقارنة مع تلك الخاصة بالنمو باستثناء المبيضة البيضاء حيث كانت متماثلة.

الكلمات الدالة : زيت عطري؛ نمو؛ تشكل أشربة حيوية؛ جراثيم مسببة للمرض؛ تجويف فموي.

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales bactéries du microbiote buccal.....	4
Tableau 2. Principaux genres bactériens présents dans la plaque dentaire.....	15
Tableau 3. Données sur les espèces végétales étudiées.....	29
Tableau 4. Rendements en huiles essentielles.....	33
Tableau 5. Rendements rapportés dans la littérature par rapport au poids frais.....	34
Tableau 6. Diamètres des zones d'inhibition.....	34
Tableau 7. Fourchette thérapeutique pour les espèces microbiennes étudiées selon CLSI.....	36
Tableau 8. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance.....	38
Tableau 9. Huiles essentielles étudiées avec leurs composés majoritaires.....	40
Tableau 10. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la formation de biofilms.....	42
Tableau 11. Noms scientifiques et leurs synonymes des plantes étudiées.....	82
Tableau 12. Appellations locales des plantes étudiées.....	85
Tableau 13. Diamètres des zones d'inhibition de trois répétitions.....	88
Tableau 14. CMI de la croissance de trois répétitions.....	90
Tableau 15. CMI de la formation de biofilms de trois répétitions.....	92

Liste des figures

Figure 1. Chronologie de la formation du biofilm dentaire.....	17
Figure 2. Répartition géographique des lieux de récolte.....	30
Figure 3. Diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm).....	35
Figure 4. CMI de la croissance en milligrammes par millilitre (mg/ml).....	38
Figure 5. CMI de la formation de biofilms en milligrammes par millilitre (mg/ml).....	43
Figure 6. <i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) Breistr.....	62
Figure 7. <i>Artemisia arborescens</i> (Vaill.) L.....	63
Figure 8. <i>Artemisia herba-alba</i> Asso.....	64
Figure 9. <i>Calamintha nepeta</i> (L.) Savi subsp. <i>nepeta</i>	65
Figure 10. <i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i> (Desf.) Ball.....	66
Figure 11. <i>Daucus crinitus</i> Desf.....	67
Figure 12. <i>Dittrichia graveolens</i> (L.) Greuter.....	68
Figure 13. <i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i> (Ucria) Bég.....	69
Figure 14. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. subsp. <i>vulgare</i>	70
Figure 15. <i>Lavandula dentata</i> L. var. <i>dentata</i>	71
Figure 16. <i>Lavandula stoechas</i> L. subsp. <i>stoechas</i>	72
Figure 17. <i>Mentha</i> × <i>piperita</i> L.....	73
Figure 18. <i>Mentha pulegium</i> L.....	74
Figure 19. <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. subsp. <i>suaveolens</i>	75
Figure 20. <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Ietsw.....	76
Figure 21. <i>Rosmarinus officinalis</i> L. subsp. <i>officinalis</i>	77
Figure 22. <i>Ruta angustifolia</i> Pers.....	78
Figure 23. <i>Thymbra capitata</i> (L.) Cav.....	79
Figure 24. <i>Thymus pallescens</i> de Noé.....	80
Figure 25. <i>Visnaga daucoides</i> Gaertn.....	81
Figure 26. Structures chimiques des composés majoritaires des huiles essentielles étudiées.....	86

Table des matières

1. Introduction.....	1
2. Synthèse bibliographique.....	3
2.1. Le microbiote buccal.....	3
2.2. Formation du biofilm dentaire.....	15
2.2.1. Phase réversible.....	16
2.2.2. Phase irréversible.....	16
2.2.3. Interactions bactériennes.....	19
2.2.4. Maturation du biofilm.....	20
2.2.5. Évolution du biofilm vers le tartre.....	21
2.3. Les produits végétaux comme agents antimicrobiens.....	21
2.3.1. L'intérêt aux produits végétaux.....	21
2.3.2. L'intérêt aux huiles essentielles.....	22
2.3.3. L'usage de produits végétaux contre les maladies buccodentaires.....	25
2.3.4. Huiles essentielles ayant une activité sur les bactéries buccales.....	25
2.3.5. Méthodes pour la réduction de la formation des biofilms dentaires.....	27
3. Matériel et méthodes.....	28
3.1. Matériel végétal.....	28
3.2. Extraction des huiles essentielles.....	28
3.3. Souches et milieux.....	30
3.4. Détermination des zones d'inhibition.....	31
3.5. Détermination des CMI de la croissance.....	31
3.6. Détermination des CMI de la formation de biofilms.....	32
4. Résultats et discussion.....	33
4.1. Rendements en huiles essentielles.....	33
4.2. Diamètres des zones d'inhibition.....	34
4.3. CMI de la croissance.....	37
4.4. CMI de la formation de biofilms.....	42
5. Conclusion.....	46
Références.....	47
Annexes.....	62

1

Introduction

1. Introduction

Les pathologies buccodentaires continuent d'être un problème majeur de santé dans le monde entier. La carie dentaire et les maladies parodontales sont parmi les plus importants problèmes mondiaux de santé buccodentaire, bien que des maladies telles que les cancers de la bouche et du pharynx et les lésions tissulaires buccales sont également des problèmes de santé importants (Palombo, 2009).

Le besoin global d'options et de produits alternatifs de traitement et de prévention pour les maladies buccodentaires qui sont sûrs, efficaces et économiques vient de l'augmentation de l'incidence des maladies (en particulier dans les pays en développement), la résistance accrue par des bactéries pathogènes aux antibiotiques et aux médicaments chimiothérapeutiques actuellement utilisés, les infections opportunistes chez les individus immunodéprimés et les considérations financières dans les pays en développement. Malgré plusieurs agents étant disponibles dans le commerce, ces produits chimiques peuvent altérer le microbiote buccal et avoir des effets secondaires indésirables tels que les vomissements, la diarrhée et la coloration des dents. Par exemple, la résistance bactérienne à la plupart (sinon la totalité) des antibiotiques couramment utilisés pour traiter les infections buccales (les pénicillines et les céphalosporines, l'érythromycine, la tétracycline et ses dérivés et le métronidazole) a été documentée. D'autres agents antibactériens utilisés dans la prévention et le traitement des maladies buccodentaires, y compris le chlorure de cétypyridinium, la chlorhexidine, les fluorures d'amines ou des produits contenant de tels agents, sont signalés à présenter une toxicité, tacher les dents ou dans le cas de l'éthanol (généralement trouvé dans les bains de bouche) étaient liés au cancer de la bouche tel que rapporté par Knoll-Köhle et Stiebel (2002), Rodrigues *et al.* (2007), Lachenmeier (2008) et McCullough et Farah (2008).

Par conséquent, la recherche de produits alternatifs se poursuit et les composés phytochimiques naturels isolés de plantes utilisées en médecine traditionnelle sont considérés comme de bonnes alternatives aux produits chimiques synthétiques. Des substances naturelles telles que l'huile d'écorce de cannelle et l'huile de clou de girofle (l'aldéhyde cinnamique et l'eugénol) ont montré une activité contre les bactéries buccales (Saeki *et al.*, 1989). Les polyphénols monomériques, en particulier les catéchines simples telles que l'épicatéchine, le gallate d'épicatéchine, et le gallate d'épigallocatechine sont soupçonnés d'être responsables de plusieurs effets biologiques tels que les effets bactéricides sur les bactéries buccales, la prévention de l'adhérence des bactéries à la surface des dents, l'inhibition de la production de glucanes et l'inhibition des amylases (Hamilton-Miller, 2001 ; Sasaki *et al.*, 2004). Smullen *et al.* (2007) ont déterminé la capacité d'extraits frais d'aliments à haute teneur en polyphénols d'inhiber la croissance de *S. mutans* et d'autres agents pathogènes de la cavité buccale.

Dans le même axe de recherche de substances naturelles antimicrobiennes, nous nous sommes intéressés à l'effet préventif de vingt huiles essentielles contre certains agents pathogènes se trouvant d'une façon inhabituelle et en prédominance suite à un manque d'hygiène au niveau de la cavité buccale, à savoir, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*,

Pseudomonas aeruginosa et *Staphylococcus aureus*. Les plantes ont été choisies du fait de l'absence de travaux rapportant leur utilisation dans l'inhibition de la formation de biofilms par ces microorganismes, et aussi du fait de leur abondance dans la région de Tlemcen et de leur contenu riche en huiles essentielles. Ce travail est organisé en (1) une recherche bibliographique sur les biofilms dentaires et sur l'utilisation des produits naturels d'origine végétale contre les espèces microbiennes responsables de la formation de ces biofilms, (2) une présentation du matériel végétal, des souches microbiennes étudiées et des méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité des huiles essentielles, et (3) l'interprétation des résultats obtenus.

2

Synthèse bibliographique

2. Synthèse bibliographique

2.1. Le microbiote buccal

Malgré les progrès généraux dans l'état de santé global des personnes vivant dans les pays industrialisés, y compris la santé buccodentaire, la prévalence de la carie dentaire chez les enfants d'âge scolaire est jusqu'à 90 % et la majorité des adultes sont également touchés. La santé buccodentaire fait partie intégrante du bien-être général et se rapporte à la qualité de vie qui s'étend au-delà des fonctions du complexe cranio-facial. Il y a des preuves considérables reliant la mauvaise santé buccodentaire aux maladies chroniques, par exemple, il y a une forte association entre les maladies parodontales sévères et le diabète. Il y a également des preuves reliant la mauvaise santé buccodentaire et des maladies systémiques, telles que les maladies cardiovasculaires, l'arthrite rhumatoïde et l'ostéoporose, alors que les maladies parodontales peuvent également contribuer au risque de complications de la grossesse, telles que le poids faible du prématuré à la naissance. La perte des dents, causée par une mauvaise santé parodontale (qui touche jusqu'à 20 % de la population adulte dans le monde entier) peut conduire à une morbidité significative et la mort prématurée. L'impact économique des maladies buccodentaires est un facteur important jusqu'à 10 % des dépenses publiques de santé dans les pays développés en matière de soins dentaires curatifs. Dans la plupart des pays en développement, les dépenses dans les soins de santé buccodentaire sont faibles, l'accès aux soins de santé dentaire est limité et est généralement réservé à des soins dentaires d'urgence ou de soulagement de la douleur. Même s'il y a eu une nette amélioration de la santé buccodentaire dans les pays les plus développés dans le monde entier, les populations d'individus défavorisés de santé dentaire existent dans ces pays, souvent les populations d'enfants autochtones et les personnes de faible statut socio-économique, où la santé buccodentaire se détériore (Palombo, 2009).

Le lien entre les maladies buccodentaires et les activités des espèces microbiennes qui font partie du microbiote de la cavité buccale est bien établi. Plus de 750 espèces de bactéries vivent dans la cavité buccale (~50 % d'entre elles sont encore à identifier) et un certain nombre d'entre elles est impliqué dans les maladies buccodentaires. Le développement de la carie dentaire implique des bactéries acidogènes et aciduriques à Gram positif, principalement les streptocoques du groupe *mutans* (*Streptococcus mutans* et *S. sobrinus*), les lactobacilles et les actinomycètes, qui métabolisent le saccharose en acides organiques (principalement l'acide lactique) qui dissolvent le phosphate de calcium des dents, causant une décalcification et une éventuelle dégradation. La carie dentaire est donc une maladie sus-gingivale. En revanche, les maladies parodontales sont des maladies sous-gingivales qui sont liées à des bactéries anaérobies à Gram négatif telles que *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus* sp., *Prevotella* sp. et *Fusobacterium* sp. Dans les maladies parodontales, les zones en dessous de la crevasse gingivale deviennent infectées en provoquant une réponse inflammatoire cellulaire de la gencive et du tissu conjonctif environnant. Ces réactions inflammatoires peuvent se manifester en tant que gingivite (très fréquente et considérée comme des saignements des tissus gingivaux) ou parodontite (la réponse inflammatoire entraîne la perte d'attachement du collagène de la dent à l'os et la perte de l'os) (Palombo, 2009). Les principales bactéries du microbiote buccal sont représentées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Principales bactéries du microbiote buccal (Barsotti, 2006).

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Abiotrophia</i> <i>A. defectiva</i> (ex- <i>Streptococcus</i>)	Coques polymorphes (ovoïdes, coccobacillaires) À Gram positif Aérobies et anaérobies facultatives	α	-	Hôtes normaux de la cavité buccale (plaque jeune), de l'intestin et de l'appareil urogénital Isolées d'hémocultures lors de bactériémies, de septicémies et d'endocardites
<i>Acinetobacter</i> <i>A. lwoffii</i>	1,5-2,5 μ Bacilles courts En paires, en chaînes À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ	+	Présentes dans les sillons gingivaux sains Isolées de parodontites agressives généralisées et de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies et au VIH
<i>Actinomyces</i> (anaérobies facultatives) <i>A. graevenitzi</i> <i>A. naeslundii</i> (ex- <i>A. naeslundii</i> genosp. 1) <i>A. oris</i> (ex- <i>A. naeslundii</i> genosp. 2) <i>A. radidentis</i> <i>A. viscosus</i> (anaérobies strictes) <i>A. georgiae</i> <i>A. gerencseriae</i> <i>A. israelii</i> <i>A. meyeri</i> <i>A. odontolyticus</i> (serovars I et II) <i>A. oricola</i>	2-50 μ Coccobacilles ou bacilles droits parfois légèrement incurvés, \pm longs, avec des ramifications, et parfois des renflements aux extrémités Souvent en V, en L, en Y ou en palissade À Gram positif	nd α α - γ nd α α - γ α - γ α - γ γ	- - \pm + + -	Présentes dans les sillons et les plaques dentaires supra- et sous-gingivales, la salive et sur les tissus mous Isolées de caries, de nécroses pulpaires, d'infections et de réinfections endodontiques et périapicales, de granulomes, de cellulites, lors d'échec de traitement endodontique, de gingivites, de parodontites péri-implantaires, d'abcès parodontaux et parfois d'hémocultures lors d'endocardites
<i>Aggregatibacter</i> <i>A. actinomycetemcomitans</i> (ex- <i>Actinobacillus</i>) <i>A. aphrophilus</i> (ex- <i>Haemophilus</i>) <i>A. segnis</i> (ex- <i>Haemophilus</i>)	0,4-1 μ Coccobacilles Isolées, en paires À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ γ γ γ	+ - \pm	Présentes sur les lèvres, le palais, dans les sillons et les plaques dentaires supra- et sous-gingivales Isolées de parodontites péri-implantaires, de parodontites agressives localisées, de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies, au VIH, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au syndrome de Down et au diabète
<i>Anaerococcus</i> <i>A. prevotii</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5-1,2 μ Coques En chaînes, en tétrades, en grappes À Gram positif Anaérobies strictes	γ - β	\pm	Isolées de parodontites péri-implantaires
<i>Anaeroglobus</i> <i>A. geminatus</i>	0,5-1,1 μ Ovoïdes En paires À Gram négatif Anaérobies strictes	γ	-	Présentes dans la cavité buccale et le tractus gastro-intestinal

H : hémolyse ; C : catalase ; nd : non déterminé.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Atopobium</i>	1-10 µ	γ	-	Retrouvées au niveau des gencives
<i>A. minutum</i> (ex- <i>Lactobacillus</i>)	Bacilles courts, parfois coccoïdes			Isolées d'abcès dentaires
<i>A. rimae</i> (ex- <i>Lactobacillus</i>)	(coccobacilles) En paires, courtes chaînes À Gram positif Anaérobies strictes			
<i>Bifidobacterium</i>	1,5-8 µ			Isolées de caries et d'infections endodontiques
<i>B. dentium</i>	Bacilles moyens Isolées, en chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	
<i>Bulleidia</i>	0,5-0,8 µ ou 2 µ			Retrouvées dans la cavité buccale
<i>B. extructa</i>	Bacilles courts Isolées, en paires À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Isolées de poches parodontales et d'abcès dentaires
<i>Campylobacter</i>	0,5-5 µ			Présentes dans les sillons et les plaques dentaires supra- et sous-gingivales
<i>C. concisus</i>	Bacilles courts (droits	γ	-	
<i>C. curvus</i>	ou en virgule), ou sous	α	-	Isolées de nécroses pulpaire, de lésions endo-
<i>C. gracilis</i>	forme de filaments	γ	-	parodontales, de desmodontites, de
<i>C. rectus</i>	À Gram négatif	α	-	parodontites péri-implantaires, de parodontites
<i>C. showae</i>	Anaérobies facultatives	α	+	chroniques actives, de parodontites agressives
<i>C. sputorum</i>		γ	±	localisées, de parodontites associées au VIH, au diabète et à la maladie de Crohn
<i>Capnocytophaga</i>	2,5-6 µ			Présentes dans les sillons et les plaques dentaires supra- et sous-gingivales
<i>C. gingivalis</i>	Fusifformes	γ	-	
<i>C. granulosa</i>	En virgules	β	+	Isolées de nécroses pulpaire, d'abcès
<i>C. haemolytica</i>	À Gram négatif	β	+	périapicaux, d'infections endodontiques, de
<i>C. ochracea</i>	Anaérobies facultatives	γ	-	parodontites péri-implantaires, de parodontites
<i>C. sputigena</i>		γ	-	agressives localisées, de parodontites associées au diabète
<i>Centipeda</i>	4-17 µ	γ	-	Isolées de parodontites
<i>C. periodontii</i>	Grands bacilles, parfois en S À Gram négatif Anaérobies strictes			
<i>Clostridium</i>	1,5-20 µ			Présentes dans les sillons gingivaux sains
<i>C. butyricum</i>	Bacilles moyens	α-β		Isolées de caries, de parodontites associées au
<i>C. hastiforme</i>	En paires, isolées, en	β		VIH et de gingivites associées au syndrome de
<i>C. malenominatum</i>	courtes chaînes	α-β		Down
<i>C. ramosum</i>	À Gram positif	β		
<i>C. sporogenes</i>	Anaérobies strictes	β		
<i>C. subterminale</i>		β		

H : hémolyse ; C : catalase.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Corynebacterium</i> <i>C. matruchotii</i>	1,5-8 μ Polymorphes (filaments surtout mais aussi en forme de manche de fouet « whiphandle ») À Gram positif Anaérobies facultatives	γ	+	Présentes dans la cavité buccale Isolées de parodontites
<i>Cryptobacterium</i> <i>C. curtum</i>	0,5-1 μ Coccobacilles Isolées, en grappes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Retrouvées dans la cavité buccale humaine
<i>Desulfomicrobium</i> <i>D. orale</i>	0,6-0,8 μ ou 1,8-3 μ Bacilles fins Isolées À Gram négatif Anaérobies strictes	γ	-	Leur habitat est la cavité buccale Isolées de plaques sous-gingivales de patients atteints de parodontites
<i>Dialister</i> <i>D. pneumosintes</i> (ex- <i>Bacteroides</i>)	1-6 μ Coccobacilles Isolées, en paires, en courtes chaînes À Gram négatif Anaérobies strictes	γ	-	Peu présentes dans une cavité buccale saine Isolées d'infections endodontiques, de lésions périapicales, de parodontites \pm sévères, d'abcès du cerveau, et du tractus respiratoire
<i>Eggerthella</i> <i>E. lenta</i> (ex- <i>Eubacterium</i>)	Bacilles courts Isolées, en paires, en chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Surtout retrouvées dans les fèces, rarement isolées dans la cavité buccale
<i>Eikenella</i> <i>E. corrodens</i>	1,5-4 μ Bacilles courts ou sous forme de filaments À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ	\pm	Présentes dans les sillons gingivaux sains Isolées de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives et de parodontites associées au syndrome de Papillon-Lefèvre et au diabète
<i>Enterococcus</i> <i>E. faecalis</i>	0,6-2,5 μ Ovoïdes En paires, en courtes chaînes À Gram positif Aérobies et anaérobies facultatives	γ - β	-	Infections endodontiques, échec du traitement endodontique

H : hémolyse ; C : catalase.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
Eubacterium <i>E. brachy</i> <i>E. infirmum</i> <i>E. minutum</i> <i>E. nodatum</i> <i>E. saburreum</i> <i>E. saphenum</i> <i>E. sulci</i> (ex- <i>Fusobacterium</i>) <i>E. yurii</i>	0,3-10 µ Bacilles courts ou en filaments ou parfois de forme coccoïde (coccobacilles) Isolées, en chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Présentes dans les plaques dentaires supra- et sous-gingivales Isolées de caries, de nécroses pulpaire, d'infections et de réinfections endodontiques, de desmodontites, de parodontites péri-implantaires, d'abcès parodontaux, de parodontites associées au VIH ou à la maladie de Crohn
Filifactor <i>F. alocis</i> (ex- <i>Fusobacterium</i>)	1,5-7 µ Bacilles moyens Isolées, en paires À Gram négatif Anaérobies strictes	γ	-	Isolées d'infections endodontiques, de lésions périapicales et de parodontites
Finegoldia <i>F. magna</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5-1,2 µ Gros cocci Isolées, en tétrades, en grappes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	±	Isolées de caries
Fusobacterium <i>F. necrophorum</i> subsp. <i>funduliforme necrophorum</i> <i>F. nucleatum</i> subsp. <i>fusiforme nucleatum polymorphum vincentii</i> <i>F. periodonticum</i>	3-100 µ (3-10 µ en moyenne) Filaments aux extrémités arrondies ou effilées, avec parfois présence de granules Isolées, en chaînes À Gram négatif Anaérobies strictes	α-β β-γ γ	-	Présentes dans les sillons et les plaques supra- et sous-gingivales sur la langue Isolées de nécroses pulpaire, d'infections endodontiques, d'abcès périapicaux, de lésions endo-parodontales, de parodontites péri-implantaires, de gingivites chroniques, de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives localisées, de parodontites nécrotiques, d'abcès parodontaux, de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies, au VIH, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au diabète et à la maladie de Crohn
Gemella <i>G. morbillorum</i> <i>G. bergeri</i>	0,5-1,4 µ Ovoïdes En paires, isolées, en courtes chaînes, en amas À Gram positif Aérobies et anaérobies facultatives	α ou γ α ou γ	v -	Isolées de caries radiculaires, d'infections endodontiques avec lésions périapicales, d'abcès dentaires, de parodontites sévères et d'hémocultures lors d'endocardites

H : hémolyse ; C : catalase ; v : variable.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
Granulicatella <i>G. adiacens</i> (ex- <i>Abiotrophia</i> , ex- <i>Streptococcus</i>) <i>G. elegans</i> (ex- <i>Abiotrophia</i>)	Coques polymorphes (coccoïdes ou coccobacillaires) En paires, en courtes chaînes À Gram positif Aérobies et anaérobies facultatives	α α	-	Hôtes normaux de la cavité buccale (plaque jeune), de l'intestin et de l'appareil urogénital Isolées d'hémocultures lors de bactériémies, de septicémies et d'endocardites sévères
Haemophilus <i>H. influenzae</i> <i>H. parahaemolyticus</i> <i>H. parainfluenzae</i>	1 μ Coccobacilles ou bacilles sous forme de filaments À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ β γ γ	+ \pm \pm -	Présentes dans les sillons gingivaux sains Isolées de parodontites associées au syndrome de Papillon-Lefèvre
Klebsiella <i>K. pneumoniae</i>	0,6-6 μ Bacilles courts En paires, isolées, en chaînes À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ	+	Isolées de parodontites péri-implantaires, de parodontites agressives généralisées, de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies et au VIH
Lactobacillus <i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. oris</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. zeae</i>	1-100 μ Bacilles \pm fins, droits, \pm longs et parfois coccoïdes (coccobacillaires) En paires, isolées, en courtes chaînes À Gram positif Anaérobies facultatives	γ	-	Présentes dans la plaque dentaire supra-gingivale, dans la salive et sur les tissus mous Isolées de caries et de nécroses pulpaires
Leptotrichia <i>L. buccalis</i> <i>L. hofstadii</i> <i>L. shahii</i> <i>L. trevisanii</i> <i>L. wadei</i>	5-15 μ Filaments avec granules Gram-positifs, fusiformes, parfois légèrement incurvés En paires, en chaînes À Gram négatif Anaérobies strictes	γ β γ nd β	- + + + +	Présentes dans la salive, les plaques supra- et sous-gingivales de sujets sains ou atteints de gingivites <i>L. buccalis</i> est occasionnellement isolée d'hémocultures de patients immunodéprimés (neutropénie) ou atteints d'endocardites
Mogibacterium <i>M. diversum</i> <i>M. neglectum</i> <i>M. pumilum</i> <i>M. timidum</i> (ex- <i>Eubacterium</i>) <i>M. vesicum</i>	0,2-0,3 μ ou 1-5 μ Bacilles courts Isolées, en courtes chaînes, en grappes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Retrouvées sur la langue Isolées de pulpes dentaires nécrosées et de parodontites

H : hémolyse ; C : catalase ; nd : non déterminé.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
Moraxella subgen. Branhamella <i>M. catarrhalis</i>	1,5-2,5 µ Coques en paires, en courtes chaînes, en grappes À Gram négatif Aérobies et anaérobies facultatives	γ	+	Présentes dans la cavité buccale
Mycoplasma <i>M. buccale</i> <i>M. faucium</i> <i>M. hominis</i> <i>M. orale</i> <i>M. pneumoniae</i> <i>M. salivarium</i>	1-30 µ Polymorphes À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ nd γ γ γ γ	- nd - - - -	Retrouvées dans la cavité buccale
Neisseria <i>N. sicca</i>	0,6-1 µ Coques en paires, en tétrades À Gram négatif Aérobies et anaérobies facultatives	γ-α	+	Présentes sur les lèvres, la langue, les plaques supra- et sous-gingivales Isolées de nécroses pulpaires
Olsenella <i>O. profusa</i> <i>O. uli</i> (ex- <i>Lactobacillus</i>)	1-10 µ Bacilles courts En paires, en courtes chaînes, isolées À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Isolées de plaques sous-gingivales de patients atteints de parodontites
Parascardovia <i>P. denticolens</i> (ex- <i>Bifidobacterium</i>)	1-6 µ Petits bacilles fins de forme variable À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Isolées de caries dentaires
Parvimonas <i>P. micra</i> (ex- <i>Micromonas micros</i> , ex- <i>Peptostreptococcus micros</i>)	0,5-1,2 µ Coques En paires, en chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ-β	-	Isolées de caries, d'infections et de réinfections endodontiques, d'abcès périacpicaux, de parodontites péri-implantaires, de parodontites chroniques actives, d'abcès parodontaux, de parodontites associées au VIH et à la maladie de Crohn.
Peptococcus <i>P. niger</i>	0,3-1,2 µ Coques En paires, en chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	±	Isolées de lésions endo-parodontales et de desmodontites
Peptoniphilus <i>P. asaccharolyticus</i> (ex- <i>Peptostreptococcus</i>)	0,5-1,2 µ Coques En paires, en grappes, en courtes chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Isolées de caries

H : hémolyse ; C : catalase ; nd : non déterminé.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Peptostreptococcus</i> <i>P. anaerobius</i>	0,5-1,2 µ Coques En paires, en courtes chaînes À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Présentes sur la langue et dans les sillons gingivaux sains Isolées de caries, de nécroses pulpaire, d'infections endodontiques, de desmodontites et d'abcès parodontaux
<i>Porphyromonas</i> (pigmentées) <i>P. asaccharolytica</i> <i>P. endodontalis</i> <i>P. gingivalis</i> (non pigmentées) <i>P. catoniae</i>	1-3 µ Coccobacilles À Gram négatif Anaérobies strictes	nd γ β-γ γ-β	-	Présentes dans les sillons et la plaque sous-gingivale, sur les lèvres et la langue Isolées de nécroses pulpaire, d'infections endodontiques, de desmodontites, d'abcès périapicaux, de lésions endo-parodontales, de parodontites péri-implantaires, de gingivites chroniques, de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives, de parodontites nécrotiques, d'abcès parodontaux, de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies, au VIH, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au syndrome de Down, au diabète et à la maladie de Crohn
<i>Prevotella</i> (pigmentées) <i>P. denticola</i> <i>P. intermedia</i> <i>P. loescheii</i> <i>P. melaninogenica</i> <i>P. nigrescens</i> <i>P. pallens</i> <i>P. shahii</i> <i>P. tanneriae</i> (non pigmentées) <i>P. baroniae</i> <i>P. buccae</i> <i>P. buccalis</i> <i>P. dentalis</i> <i>P. enoeca</i> <i>P. heparinolytica</i> <i>P. marshii</i> <i>P. multiformis</i> <i>P. oralis</i> <i>P. oris</i> <i>P. oulorum</i> <i>P. salivae</i> <i>P. veroralis</i> <i>P. zooglyphiformans</i>	1-6 µ Bacilles polymorphes (courts, en filaments, ou coccoïdes de type coccobacilles) Isolées, en paires, en chaînes À Gram négatif Anaérobies strictes	γ α-β γ-β α-β β γ nd β nd γ-β α γ γ nd nd γ-β γ β nd β α	-	Présentes dans les sillons et la plaque sous-gingivale, sur les lèvres et la langue Isolées de nécroses pulpaire, d'infections endodontiques, d'abcès périapicaux, de lésions endo-parodontales, d'ostéites, de parodontites péri-implantaires, de gingivites chroniques, de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives, de parodontites nécrotiques, d'abcès parodontaux, de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies, au VIH, au syndrome de Papillon-Lefèvre, au syndrome de Down, au diabète et à la maladie de Crohn

H : hémolyse ; C : catalase ; nd : non déterminé.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Propionibacterium</i>	1-5 µ			Présentes dans la plaque supra-gingivale
<i>P. acnes</i>	Coccobacilles, bacilles courts en V, en L	γ-β	±	Isolées de caries, d'infections et de réinfections endodontiques, d'abcès périapicaux, de parodontites péri-implantaires
<i>P. avidum</i>	À Gram positif	γ	+	
<i>P. freudenreichii</i>	Anaérobies strictes	γ	+	
<i>P. granulosum</i>		γ	±	
<i>P. jensenii</i>		γ-β	-	
<i>P. propionicum</i>				
<i>Pseudomonas</i>	1,5-5 µ			Isolées de réinfections endodontiques, de parodontites péri-implantaires, de parodontites agressives généralisées, de parodontites associées aux leucémies ou neutropénies et au VIH
<i>P. aeruginosa</i>	Courts, droits ou courbés En paires, en chaînes À Gram négatif Anaérobies facultatives	γ	+	
<i>Pseudoramibacter</i>	Grands bacilles			Isolées de caries dentaires
<i>P. alactolyticus</i> (ex- <i>Eubacterium</i>)	En paires, chaînes, en V ou L À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	
<i>Rothia</i>	1-5 µ			Présentes dans la cavité buccale et le pharynx
<i>R. dentocariosa</i> (genomovars I et II)	Polymorphes (parfois coccobacilles)	γ	+	Isolées de caries, d'abcès du cerveau, de septicémies et d'endocardites
<i>R. mucilaginosus</i> (ex- <i>Stomatococcus mucilaginosus</i>)	En paires À Gram positif Anaérobies facultatives	γ	±	
<i>Scardovia</i>	1-6 µ			Isolées de caries dentaires
<i>S. inopinata</i> (ex- <i>Bifidobacterium</i>)	Bacilles courts ou de forme coccoïde À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	
<i>Selenomonas</i>	3-6 µ			Présentes dans les sillons et la plaque sous-gingivale
<i>S. artemidis</i>	Bacilles incurvés ou en hélice	γ	-	Isolées d'abcès périapicaux et de parodontites (chroniques actives, agressives généralisées et associées à la maladie de Crohn)
<i>S. diana</i>	Isolées, en paires, en courtes chaînes			
<i>S. flueggei</i>	À Gram négatif			
<i>S. infelix</i>	Anaérobies strictes			
<i>S. noxia</i>				
<i>S. sputigena</i>				
<i>Shuttleworthia</i>	0,4-0,6 µ ou 1-2,5 µ			Présentes dans la cavité buccale humaine
<i>S. satelles</i>	Petits bacilles légèrement incurvés Isolées, en paires, en courtes chaînes À Gram positif Anaérobies strictes			Isolées de plaques sous-gingivales et de poches parodontales de patients atteints de parodontites
<i>Slackia</i>	0,3-10 µ			Surtout retrouvées dans les fèces, rarement isolées dans la cavité buccale
<i>S. exigua</i> (ex- <i>Eubacterium</i>)	Coccobacilles Isolées À Gram positif Anaérobies strictes	γ	-	Isolées d'infections endodontiques, d'abcès buccaux et de parodontites

H : hémolyse ; C : catalase.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
Staphylococcus	0,5-1,5 µ			
<i>S. aureus</i>	Coques	α-β-γ	+	Présentes sur la peau, au niveau du nez, des dents (fissures), sur la langue
<i>S. epidermidis</i>	En grappes, en paires, en tétrades À Gram positif Aérobies et anaérobies facultatives	α-γ	+	Isolées de nécroses pulpaire, d'ostéites, d'alvéolites, de réinfections endodontiques, de parodontites agressives généralisées, de parodontites péri-implantaires, de maladies parodontales chez les sujets immunodéprimés (leucémiques, neutropéniques)
Streptococcus streptocoques oraux	0,5-2 µ			
<i>S. mutans</i>	Coques		-	Présentes dans la plaque supra-gingivale, les sillons gingivaux, la salive et sur les tissus mous
<i>S. sobrinus</i>	En paires, en chaînes	α-γ		
<i>S. devriesei</i>	À Gram positif	γ-α		Isolées de caries, de nécroses pulpaire, de réinfections endodontiques, d'abcès périapicaux, de gingivites chroniques, de parodontites péri-implantaires et d'endocardites
<i>S. anginosus</i>	Aérobies et anaérobies facultatives	nd		
<i>S. constellatus</i>		α-β-γ		
<i>S. intermedius</i>		α-β-γ		
<i>S. australis</i>		α		
<i>S. cristatus</i>		α-γ		
<i>S. gordonii</i>		α-γ		
<i>S. infantis</i>		α		
<i>S. mitis</i>		α-γ		
<i>S. oligofermentans</i>		α		
<i>S. oralis</i>		α-γ		
<i>S. parasanguinis</i>		α-γ		
<i>S. peroris</i>		α		
<i>S. sanguinis</i>		α-γ		
<i>S. pneumoniae</i>		α		
<i>S. salivarius</i>		γ-α-β		
<i>S. vestibularis</i>		γ-α		
Tannerella	3-6 µ			
<i>T. forsythia</i>	Fusifformes	γ	-	Présentes dans les sillons et la plaque sous-gingivale
(ex- <i>Bacteroides</i>)	À Gram négatif Anaérobies strictes			Isolées de parodontites chroniques actives, de parodontites agressives généralisées et d'abcès prodontaux
Treponema	5-250 µ			
<i>T. amylovorum</i>	Bacilles hélicoïdaux	γ	-	Présentes sur les joues, dans les sillons et la plaque sous-gingivale
<i>T. denticola</i>	À Gram négatif	γ	-	
<i>T. lecithinolyticum</i>	Anaérobies strictes	β ou γ	-	Isolées d'infections endodontiques, de granulomes, d'abcès périapicaux, de péri coronarites, de cellulites, de gingivites, d'abcès parodontaux et de parodontites (chroniques actives, nécrotiques, associées aux leucémies ou neutropénies, au VIH, au syndrome de Down, et péri-implantaires)
<i>T. maltophilum</i>		γ	-	
<i>T. medium</i>		γ	-	
<i>T. parvum</i>		γ	-	
<i>T. pectinovorum</i>		γ	-	
<i>T. putidum</i>		γ	-	
<i>T. socranskii</i> subsp.		γ	-	
<i>buccale</i>				
<i>paredis</i>				
<i>socranskii</i>				
<i>T. vincentii</i>		γ	-	

H : hémolyse ; C : catalase ; nd : non déterminé.

Genre espèce	Caractères bactériologiques	H	C	Habitat et pouvoir pathogène
<i>Veillonella</i>	0,3-0,5 µ			Présentes sur les tissus mous, dans les sillons, les
<i>V. atypica</i>	Petits cocci	γ	-	plaques dentaires supra- et sous-gingivales et la
<i>V. dispar</i>	En paires, en petites	γ	+	salive
<i>V. parvula</i>	chaînes, souvent en grappes	γ	-	Isolées de caries, de nécroses pulpaire,
	À Gram négatif			d'infections endodontiques et d'abcès
	Anaérobies strictes			parodontaux

H : hémolyse ; C : catalase.

L'intérêt a grandi concernant les groupes d'espèces qui ne se trouvent pas couramment au niveau de la plaque sous-gingivale comme initiateurs ou éventuellement contributeurs à la pathogénie de la maladie parodontale, en particulier chez les personnes qui ont répondu mal au traitement parodontal. Les espèces qui ne sont pas généralement considérées d'être présentes au sein de la plaque sous-gingivale peuvent être trouvées en une proportion chez de tels sujets ou même chez les sujets qui n'ont pas reçu un traitement parodontal (Dumitrescu et Ohara, 2010).

Afin d'élucider la gamme des espèces de bacilles anaérobies facultatifs non-buccaux à Gram négatif impliqués dans la parodontite humaine, Slots et *al.* (1990a, b) ont étudié 3050 patients atteints de parodontite avancée et ont obtenu des échantillons regroupés à partir de 9150 poches parodontales profondes. *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* et *Enterobacter agglomerans* étaient les espèces les plus fréquemment isolées, ce qui représente plus de 50 % de toutes les souches. Il a été suggéré que certaines espèces de ce groupe d'organismes peuvent être des cofacteurs dans la parodontite destructrice et ils ne devraient pas avoir le bénéfice du doute dans le traitement. Ces bactéries sont souvent récupérées à partir du microbiote sous-gingival de patients considérés comme cliniquement réfractaires au traitement parodontal mécanique et antibiotique (Dumitrescu et Ohara, 2010).

Les entérocoques sont des cocci en chaînettes à Gram positif, anaérobies facultatifs et tolérants à la bile qui sont des habitants communs des voies gastro-intestinales et génito-urinaires de l'homme comme commensaux normaux. Ils peuvent causer une variété de maladies chez l'homme telles que l'infection des voies urinaires, de la circulation sanguine, de l'endocarde, de l'abdomen, des voies biliaires et des brûlures, et la contamination des dispositifs médicaux utilisés d'une façon permanente. Les entérocoques sont également capables de coloniser plusieurs autres sites, y compris la cavité buccale, où ils sont associés à des lésions des muqueuses buccales chez les patients immunodéprimés, à la parodontite et aux infections du canal radiculaire. Parmi les espèces d'entérocoques associées à la colonisation et à l'infection chez l'homme, *Enterococcus faecalis* est la plus fréquente (Dumitrescu et Ohara, 2010).

Cependant, très peu d'études ont évalué la corrélation entre la prévalence de *E. faecalis* et les maladies parodontales. Rams et *al.* (1992) ont détecté *E. faecalis* à 1 % de la parodontite à début précoce et à 5,1 % des patients atteints de parodontite chronique en utilisant des méthodes de culture. Colombo et *al.* (2002) ont rapporté des données sur la présence et les niveaux de *E. faecalis*

dans le microbiote sous-gingival des patients atteints de parodontite non traités et des témoins sains, en utilisant la méthode damier. Alors que Souto et Colombo (2008) ont trouvé une prévalence beaucoup plus élevée de cette espèce (80 %) dans un grand nombre d'échantillons de biofilms sous-gingivaux de patients atteints de parodontite. En outre, ces auteurs ont observé que cette bactérie était beaucoup plus répandue dans les sites sains des patients atteints de parodontite par rapport aux sites chez les personnes en bonne santé parodontale. Ils ont montré une fréquence significativement plus élevée de *E. faecalis* dans la salive (40,5 %) et les échantillons de biofilms sous-gingivaux (47,8 %) des patients atteints de parodontite par rapport aux témoins en bonne santé parodontale (14,6 et 17,1 %, respectivement).

Les espèces de staphylocoques, en particulier *Staphylococcus epidermidis* et *S. aureus*, dominent l'étiologie microbienne de l'endocardite prothétique. Cependant, la cavité buccale est déterminée en tant que source des organismes pour l'endocardite sur valve native (EVN), où les streptocoques du groupe *viridans* sont responsables de 50 % des cas (Dumitrescu et Ohara, 2010).

Les staphylocoques ont été isolés à partir de la cavité buccale, mais ils ne sont pas considérés comme des bactéries buccales résidentes et sont généralement considérés comme des organismes transitoires. Bien qu'il soit difficile de savoir s'il existe une relation de causalité entre les staphylocoques et la maladie parodontale chronique, les staphylocoques ont été isolés à partir de sites sous-gingivaux chez des patients atteints de parodontite. Cependant, quelques échantillons de la plaque sous-gingivale ont été prélevés sur des sites non malades, et, par conséquent, il n'était pas possible de déterminer si l'isolement des staphylocoques était à cause de l'état pathologique des tissus ou si les staphylocoques sont une caractéristique de tous les sites sous-gingivaux. Dans une étude récente, les staphylocoques ont été isolés à partir de 54 % des sites sous-gingivaux malades et de 43 % des sites sous-gingivaux sains chez plus de 50 % des patients atteints de parodontite et à partir de 29 % des sites sous-gingivaux sains chez 54 % des témoins. Aucune différence significative dans la fréquence d'isolement ou les nombres de staphylocoques isolés de sites malades et sains n'a été notée. *Staphylococcus epidermidis* est l'espèce buccale prédominante (Dumitrescu et Ohara, 2010).

Les espèces de micromycètes impliquées dans des pathologies de la sphère ORL sont *Candida albicans* et autres *Candida* (mycoses à levures opportunistes), *Histoplasma*, *Blastomyces* et *Paracoccidioides* (mycoses à champignons dimorphiques), et *Aspergillus* (mycoses à champignons filamenteux opportunistes). *C. albicans* est un champignon commensal de la peau et des muqueuses présent à l'état physiologique dans la flore digestive et la flore vaginale. Il est retrouvé dans la flore buccale de 50 % des individus sans caractère pathogène. De nombreux animaux sont également porteurs sains de levures du genre *Candida*. Bien qu'il n'ait pas de besoins nutritionnels particuliers limitant sa survie dans l'environnement et à l'inverse d'autres *fungi* hautement pathogènes, *Candida albicans* est rarement retrouvé dans des niches environnementales comme le sol. Le passage de la forme commensale à la forme pathogène est lié à la multiplication intense de *Candida* dans son biotope. Un certain nombre de facteurs favorisent ce passage. Les facteurs intrinsèques liés au terrain de l'individu peuvent être physiologiques. Aux âges extrêmes de la vie, nouveau-né ou

vieillard, l'homme est plus vulnérable. La grossesse s'accompagne d'une modification du pH vaginal qui augmente la sensibilité aux infections à *Candida*. Les maladies comme le diabète, les cancers, les hémopathies ou les viroses constituent des facteurs intrinsèques pathologiques qui favorisent l'émergence des infections à *Candida*. Les facteurs extrinsèques sont liés au déséquilibre de la flore bactérienne après traitement antibiotique, aux carences en vitamines B, aux allergies médicamenteuses et ruptures de la barrière cutané-muqueuse qui permettent le développement des levures sur des muqueuses sensibilisées. Enfin, tous les traitements immunosuppresseurs, les gestes chirurgicaux comme la pose de cathéters et les transplantations sont susceptibles d'induire des infections à *Candida* (Bunetel, 2006).

2.2. Formation du biofilm dentaire

L'adhérence et la colonisation des bactéries sur les surfaces dentaires sont à l'origine d'un écosystème complexe, le biofilm dentaire. Sans rétention ou adhérence sur la surface dentaire, les bactéries sont dégluties avec la salive. L'adhérence des bactéries sur une surface dentaire permet la formation d'une communauté organisée, intime, multi-espèces en biofilm. Les surfaces dentaires et parodontales sont constamment baignées dans deux liquides physiologiques différents, la salive et le fluide gingival. L'environnement supra-gingival est baigné par la salive, tandis que l'environnement sous-gingival est baigné par le fluide du sillon gingival et la salive. Les microorganismes les plus fréquemment isolés sont répertoriés dans le Tableau 2. Leur distribution varie de façon quantitative et qualitative selon leur habitat. Au niveau de la dent, les microorganismes s'organisent en biofilm. Le biofilm dentaire consiste en une communauté microbienne organisée dans une matrice extracellulaire complexe composée de produits extracellulaires microbiens et de composants salivaires. La composition microbienne du biofilm dentaire varie dans le temps et selon les sites. Le biofilm dentaire se développe préférentiellement sur les surfaces protégées des frictions mécaniques comme les faces proximales de dents contiguës ou l'espace sous-gingival (Gracieux et *al.*, 2006).

Tableau 2. Principaux genres bactériens présents dans la plaque dentaire (Gracieux et *al.*, 2006).

Genres à Gram positif		Genres à Gram négatif	
Cocci	Bacilles	Cocci	Bacilles
<i>Peptococcus</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Aggregatibacter</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Campylobacter</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>		<i>Capnocytophaga</i>
	<i>Eubacterium</i>		<i>Fusobacterium</i>
	<i>Lactobacillus</i>		<i>Haemophilus</i>
	<i>Propionibacterium</i>		<i>Klebsiella</i>
	<i>Rothia</i>		<i>Leptotrichia</i>
			<i>Prevotella</i>
			<i>Porphyromonas</i>
			<i>Pseudomonas</i>
			<i>Selenomonas</i>
			<i>Treponema</i>

Pour s'établir dans la cavité buccale, les microorganismes doivent d'abord adhérer à la surface dentaire ou aux surfaces épithéliales. L'adhérence est un déterminant écologique primordial pour

que les bactéries buccales persistent et survivent. La bouche est le site unique où la présence des tissus durs permet le développement d'une flore particulière organisée en biofilm, alors que la desquamation des tissus épithéliaux favorise l'élimination bactérienne de la plupart des muqueuses. La fixation de bactéries pionnières est l'étape initiale de la formation du biofilm dentaire. Seul un nombre restreint d'espèces bactériennes peut se fixer directement sur la pellicule acquise exogène (PAE), un film organique d'origine salivaire. Ces bactéries possèdent à leur surface des adhésines qui reconnaissent spécifiquement des récepteurs de la PAE. Elles n'assurent pas la diversité du biofilm dentaire, mais leur présence est indispensable à la fixation ultérieure d'autres espèces bactériennes. Le biofilm dentaire est un biofilm dynamique, partiellement détruit lors du brossage des dents qui se reconstruit rapidement sur la PAE (Gracieux et *al.*, 2006). Comme tout biofilm, la formation se déroule en plusieurs étapes successives qui sont illustrées sur la Figure 1.

2.2.1. Phase réversible

Les streptocoques du groupe *mitis* sont les organismes pionniers. Ils adhèrent plus facilement que ceux du groupe *mutans* à la PAE. Dans la phase initiale de colonisation, l'adhérence résulte d'interactions physico-chimiques non spécifiques entre la bactérie et les surfaces. Ces interactions dites réversibles n'expliquent pas l'attachement sélectif des bactéries à des surfaces variées. Une bactérie libre peut se rapprocher d'une surface inerte, par exemple une surface dentaire, par le biais de quatre mécanismes (Gracieux et *al.*, 2006) :

- la convection, qui regroupe l'ensemble des forces résultant des mouvements de la langue et des courants salivaires ;
- les mouvements actifs de bactéries motiles. La motilité (mobilité bactérienne) est souvent associée au chimiotactisme qui permet aux bactéries de se rapprocher des surfaces où les concentrations en molécules (composés nutritifs, protons, molécules signal) sont plus importantes ;
- la diffusion passive. Il s'agit du mouvement brownien qui anime toutes les bactéries et leur permet un déplacement aléatoire à la vitesse moyenne de 40 $\mu\text{m}/\text{h}$;
- la gravitation.

2.2.2. Phase irréversible

L'adhérence irréversible fait intervenir des interactions non sélectives et des interactions sélectives. Les interactions non sélectives s'établissent entre une surface bactérienne globalement chargée négativement et la PAE. En effet, l'acide lipotéichoïque des bactéries à Gram positif ou le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à Gram négatif confèrent à la surface bactérienne une charge négative. Les bactéries se lient à la PAE chargée négativement par l'intermédiaire de cations divalents (notamment les ions Ca^{++}). La colonisation sélective implique des interactions spécifiques ou stéréochimiques entre les adhésines bactériennes et les récepteurs de l'hôte. Dans ce cas, les forces physico-chimiques interviennent également, mais de façon très localisée et organisée dans l'espace (Gracieux et *al.*, 2006).

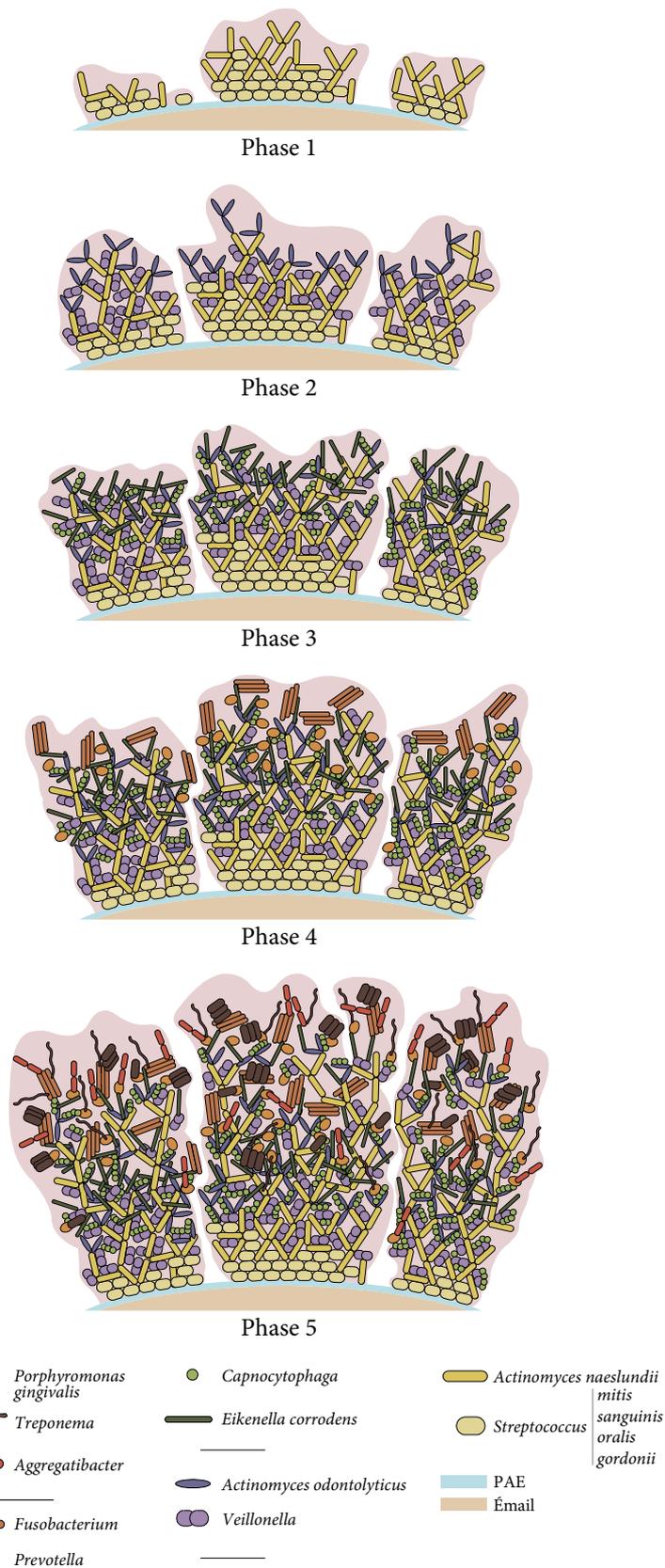


Figure 1. Chronologie de la formation du biofilm dentaire (Gracieux et *al.*, 2006).

Ces interactions spécifiques sont de type ligand-récepteur, les molécules adhésives ou adhésines bactériennes jouent le rôle de ligand. La catégorie la plus connue d'adhésines bactériennes est représentée par les lectines. Une lectine est une protéine capable de se fixer à un sucre spécifique. Les adhésines auraient un rôle de molécules sensorielles. Les streptocoques du groupe *mitis* se lient avec de nombreuses molécules de l'hôte. Ainsi, leurs adhésines de la famille des antigènes I/II ou P1 (SpaP, SpaA, Pac, ...), celles de la famille Lra1 (FimA, SsaB, PsaI, ...) et leurs protéines fixant l'amylase (Abp pour *Amylase binding protein*) se lient aux glycoprotéines salivaires de type agglutinines. Il a été montré que *S. gordonii* se lie aux protéines acides riches en proline (PRP). Les PRP acides représentent 25 à 30 % des protéines totales salivaires. Elles régulent l'équilibre cristallin de l'hydroxyapatite et contribuent à l'intégrité de la dent. La PRP1 acide est utilisée comme nutriment par les premiers colonisateurs. *S. gordonii* dégrade rapidement cette protéine en oligopeptides. L'un d'entre eux empêchera l'adhérence de *A. naeslundii*. Il existe une véritable compétition entre les deux bactéries pionnières, les streptocoques et les actinomyces, avant leur installation. Les interactions nombreuses entre les streptocoques, les molécules de l'hôte et les autres bactéries pionnières montrent qu'il existe des réseaux de communication multifactoriels entre la bactérie et son environnement (Gracieux et al., 2006).

Les adhésines peuvent être portées par des *fimbriae* ou par des flagelles. Les *fimbriae* de *A. naeslundii* sont de deux types majeurs. Le type 1 permet la colonisation des tissus durs, il se lie aux protéines riches en proline et à la stathérine de la PAE. Le type 2 permet la colonisation des tissus épithéliaux, il est impliqué dans l'adhérence inter-bactérienne. En établissant un pont entre le corps bactérien et la surface à coloniser, les *fimbriae* permettent d'établir un contact, alors que la bactérie est encore à distance de son substrat de fixation. Ils permettent ainsi le passage de la phase réversible à la phase irréversible au cours du processus de fixation d'une bactérie (Gracieux et al., 2006).

Une autre forme d'interactions spécifiques est celle de type enzyme-substrat. L'exemple le mieux documenté est celui de *S. mutans* où l'enzyme glycosyl-transférase intégrée à la surface de la bactérie synthétise des polymères de type glycane en présence de saccharose. Les glycanes insolubles sont fortement adhésifs à la surface dentaire et la liaison de la glycosyl-transférase avec le polymère maintient la bactérie sur la PAE. Les streptocoques sécrètent une matrice extracellulaire qui participe à l'adhérence irréversible. Cette matrice (appelée aussi glycocalyx) est composée de glycanes insolubles, mais aussi de glycanes et fructanes solubles et d'hétéropolymères. Elle joue un rôle actif et constitue une réserve de nutriments, d'eau et d'enzymes à l'intérieur du biofilm. Son influence sur la dynamique du biofilm n'est pas encore élucidée. On sait cependant que la production de glycanes insolubles permet la colonisation secondaire de *S. mutans*. Les bactéries adhèrent aux surfaces buccales et s'organisent en agrégats conditionnés par des interactions spécifiques et nutritionnelles. Les streptocoques, et à moindre degré quelques actinomycètes, ont une aptitude unique à la coadhésion. La colonisation par les streptocoques et les actinomycètes pourra autoriser la colonisation par d'autres espèces bactériennes (Gracieux et al., 2006).

2.2.3. Interactions bactériennes

L'adhérence inter-bactérienne correspond à la liaison entre deux bactéries libres et la co-adhérence à la liaison d'une bactérie libre sur une autre déjà fixée. Ces reconnaissances bactérie-bactérie sont le résultat d'interactions spécifiques entre une protéine de surface d'une bactérie et le récepteur complémentaire de la bactérie « partenaire ». La co-adhérence (agrégation ou co-agrégation) peut être homotypique, c'est-à-dire se produire entre bactéries d'une même espèce ou hétérotypique, c'est-à-dire entre bactéries de genres ou d'espèces différents. Les streptocoques sont les seuls espèces qui présentent une interaction bactérienne homotypique et hétérotypique. La co-agrégation traduit le phénomène de succession, phénomène décrit pour 700 souches de 14 genres. La co-agrégation favorise les échanges nutritionnels et métaboliques. Le genre *Veillonella* peut utiliser comme source de carbone les acides organiques fournis par les streptocoques. Les protéinases Rgp et Kgp de *P. gingivalis* fournissent à la fois des domaines d'adhérence et des domaines catalytiques qui libèrent des peptides nécessaires à leur croissance (Gracieux et al., 2006).

Il existe également des échanges nutritionnels inter-bactériens (synergisme et commensalisme bactérien). Différentes bactéries coopèrent par l'utilisation de substrats qu'elles sont incapables de métaboliser seuls. Par exemple, *P. gingivalis* et *F. nucleatum* métabolisent la caséine de façon synergique. La dégradation de glycoprotéines entraîne une synergie pour plusieurs bactéries qui ont des activités glycosidases et protéases complémentaires. La chaîne alimentaire aussi contribue à la diversité et à la stabilité de l'écosystème. Les streptocoques et les actinomyces produisent de l'acide lactique utilisé par *Veillonella*. L'utilisation de l'acide lactique par *Veillonella* produit de la vitamine K ou ménadione nécessaire à la croissance des bactéries à Gram négatif (*P. gingivalis*), et l'hydrogène est utilisé par *Campylobacter rectus* qui fournit un facteur de croissance proche de l'hémine, favorisant la croissance de certains bacilles à Gram négatif (*Porphyromonas*, *Prevotella*). Les bactéries libèrent une multitude de métabolites (CO₂, ammoniaque, succinate, formate, thiamine, putrécine, isobutyrate) indispensables à la croissance d'autres bactéries. L'utilisation de l'oxygène par certaines bactéries réduit la concentration d'oxygène et le potentiel d'oxydoréduction à un niveau qui permet le développement de bactéries anaérobies (Gracieux et al., 2006).

Le mécanisme de co-adhérence est important dans l'épaississement du biofilm dentaire. La co-adhérence est un exemple de commensalisme et de synergie pour les espèces microbiennes. Les bactéries coadhérées sont plus résistantes à la phagocytose par les neutrophiles. Un exemple de composition d'adhérence inter-bactérienne hétérotypique est illustré par les structures surnommées « corn cob » (épis de maïs) où des streptocoques s'associent à un microorganisme filamenteux. Toutefois, *in vivo*, la fréquence et donc la signification des phénomènes d'adhérence inter-bactérienne restent difficiles à étudier, en raison de la complexité des taxons impliqués et inconnus (Gracieux et al., 2006).

2.2.4. Maturation du biofilm

Les bactéries pionnières sont capables de résister à de fortes concentrations en oxygène et aux divers mécanismes d'élimination de la cavité buccale. Leur croissance permet l'adhérence d'autres espèces bactériennes qui étaient incapables de se fixer sur la PAE. C'est une colonisation secondaire. Au fur et à mesure que le nombre de couches augmente, de nouvelles conditions environnementales apparaissent, le taux d'oxygène diminue et les bactéries anaérobies se développent. Les proportions relatives des streptocoques et des actinomyces changent lors des premières étapes de l'accumulation bactérienne. La proportion des streptocoques augmente pendant les 12 premières heures, alors que la proportion des actinomyces diminue entre 4 et 12 heures puis augmente jusqu'à 24 heures. Aucune espèce d'actinomyces n'augmente significativement après 4 jours sans hygiène buccale, et seules quelques espèces de streptocoques augmentent significativement au cours du temps (*S. sanguinis* et *S. anginosus*) ainsi que des espèces des genres *Capnocytophaga*, *Campylobacter* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Gracieux et al., 2006).

Après plusieurs heures, de nouvelles bactéries adhèrent à la PAE et de nouvelles espèces se fixent sur les bactéries installées et augmentent ainsi la diversité du biofilm dentaire jeune. Ces espèces bactériennes, « colonisateurs secondaires ou tardifs », appartiennent principalement aux genres à Gram négatif, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Porphyromonas*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Treponema*, ... Le biofilm dentaire se développe alors en épaisseur. Il existe un équilibre entre la fixation de nouvelles bactéries et la multiplication des bactéries présentes d'une part, et l'élimination de bactéries adhérentes d'autre part. Lorsque le biofilm dentaire n'est pas éliminé, la communauté devient de plus en plus complexe. L'équilibre est atteint en 2 à 3 semaines. À ce stade, le biofilm dentaire peut contenir jusqu'à 10^9 bactéries par mg de matière (Gracieux et al., 2006).

L'accroissement du biofilm, conséquence de la division cellulaire et de la co-adhérence de nouvelles cellules, constitue l'étape de maturation. En réponse aux conditions physico-chimiques de l'environnement, quelques bactéries du biofilm se détachent pour coloniser de nouvelles surfaces, ou sont dégluties. Normalement, les bactéries et l'hôte vivent en harmonie, et la flore buccale est dite commensale, du latin *cum mensa* « manger à la même table ». Lorsqu'il y a homéostasie microbienne, état d'équilibre et de stabilité qui dépend des interactions bactéries-bactéries d'une part et des interactions bactéries-hôte d'autre part, cette flore commensale est une flore de barrière. Elle s'oppose à l'arrivée d'éventuels pathogènes exogènes ou au développement de microorganismes endogènes pathogènes opportunistes. La rupture de cet équilibre est à l'origine de la maladie, et plus particulièrement de la carie dentaire et des maladies parodontales. Cette rupture peut être due à des facteurs immunologiques et/ou non immunologiques. Ainsi, les relations mutuelles entre les bactéries de la flore commensale et l'hôte incluent à la fois des conséquences au bénéfice et au détriment de la santé de l'individu (Gracieux et al., 2006).

2.2.5. Évolution du biofilm vers le tartre

Le tartre est défini comme la minéralisation du biofilm produisant des cristaux de différents phosphates de calcium. Le tartre dentaire est principalement composé de minéral, de composants organiques et inorganiques. Les phospholipides représentent 10 % des lipides totaux avec des phosphatidyléthanolamines et des phosphatidylinositols. Ces derniers jouent un rôle important dans la minéralisation de la plaque dentaire. Ils proviennent à la fois de la salive et des constituants membranaires des bactéries (Gracieux et *al.*, 2006).

2.3. Les produits végétaux comme agents antimicrobiens

2.3.1. L'intérêt aux produits végétaux

Trouver des vertus curatives chez les végétaux est un ancien concept. Les gens sur tous les continents ont longtemps appliqué des cataplasmes et des infusions imbibées de centaines, sinon de milliers, de plantes indigènes, qui remontent à la préhistoire. Il existe des preuves que les Néandertaliens vivant il y a 60 000 ans dans l'Irak actuel ont utilisé des plantes telles que la rose trémière, ces plantes sont encore largement utilisées dans l'ethnomédecine à travers le monde. Historiquement, les résultats thérapeutiques ont été mitigés ; il y avait assez souvent des remèdes ou un soulagement des symptômes. Des intoxications sont produites aussi à un taux élevé. À l'heure actuelle, du quart à la moitié de tous les produits pharmaceutiques distribués aux États-Unis sont d'origine de plantes supérieures, très peu sont destinés à être utilisés comme antimicrobiens, puisque nous nous appuyons sur des sources bactériennes et fongiques pour ces activités. Depuis l'avènement des antibiotiques dans les années 1950, l'utilisation de dérivés de plantes comme agents antimicrobiens était pratiquement inexistante (Cowan, 1999).

Les microbiologistes cliniciens ont deux raisons d'être intéressés par le sujet d'extraits végétaux antimicrobiens. Tout d'abord, il est très probable que ces composés phytochimiques trouveront leur place dans l'arsenal des médicaments antimicrobiens prescrits par les médecins ; plusieurs sont déjà à l'essai chez l'homme. Il est rapporté que, en moyenne, deux ou trois antibiotiques dérivés de microorganismes sont lancés chaque année. Après un ralentissement de ce rythme au cours des dernières décennies, le rythme s'accélère à nouveau que les scientifiques se rendent compte que la durée de vie effective de tout antibiotique est limitée. Les dépenses mondiales en recherche de nouveaux agents anti-infectieux (y compris les vaccins) devrait augmenter de 60 % par rapport aux niveaux de dépenses en 1993. De nouvelles sources, en particulier des sources végétales, sont également à l'étude. Deuxièmement, le public est de plus en plus conscient des problèmes avec la surprescription et la mauvaise utilisation des antibiotiques traditionnels. En outre, beaucoup de gens sont intéressés à avoir plus d'autonomie dans leurs soins médicaux (Cowan, 1999).

Une multitude de composés végétaux (souvent de pureté peu fiable) est disponible sur le comptoir chez les fournisseurs de plantes et les magasins d'aliments naturels, et l'automédication

avec ces substances est monnaie courante. L'utilisation d'extraits de plantes, ainsi que d'autres formes alternatives de traitements médicaux, jouit d'une grande popularité dans les années 1990. Au début de cette décennie, environ un tiers des personnes interrogées aux États-Unis ont utilisé au moins une thérapie « non conventionnelle ». Il a été signalé que, en 1996, les ventes de médicaments botaniques ont augmenté de 37 % par rapport à 1995. On suppose que le public américain peut réagir à la surprescription de médicaments, parfois toxiques, tout comme leurs prédécesseurs du XIX^e siècle qui ont réagi à la surutilisation des saignements, à la purge et au calomel (Cowan, 1999).

Les plantes médicinales ont été utilisées comme traitements traditionnels pour de nombreuses maladies humaines depuis des milliers d'années et dans de nombreuses régions du monde. Dans les zones rurales des pays en développement, elles continuent à être utilisées comme source principale de médecine. Environ 80 % des habitants des pays en développement utilisent la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé. Les produits naturels issus de plantes médicinales se sont révélés être une source abondante de composés biologiquement actifs, dont plusieurs ont servi de base pour le développement de nouveaux produits chimiques principaux pour les produits pharmaceutiques. En ce qui concerne les maladies causées par des microorganismes, la résistance accrue chez de nombreux pathogènes courants aux agents thérapeutiques actuellement utilisés, tels que les antibiotiques et les agents antiviraux, a conduit à un regain d'intérêt dans la découverte de nouveaux composés anti-infectieux. Comme il y a environ 500 000 espèces de plantes qui se trouvent dans le monde, dont seulement 1 % a été phytochimiquement étudié, il y a un grand potentiel pour la découverte de nouveaux composés bioactifs (Palombo, 2009).

2.3.2. L'intérêt aux huiles essentielles

Les huiles essentielles sont devenues une partie intégrante de la vie quotidienne. Elles sont utilisées en plusieurs façons : comme arômes alimentaires, comme additifs alimentaires, comme agents aromatisants dans plusieurs industries, et dans la composition de produits cosmétiques, de parfums et de déodorants. En outre, elles sont utilisées dans plusieurs branches de médecine telles que la pharmacie, la balnéothérapie, le massage et l'homéopathie, et dans des domaines plus spécialisés tels que l'aromathérapie et l'aromachologie. Ces dernières années, l'importance des huiles essentielles comme biocides et insectifuges a conduit à une étude plus détaillée de leur potentiel antimicrobien. Les huiles essentielles sont aussi de bonnes sources naturelles de substances ayant un potentiel commercial comme matières premières pour la synthèse chimique. Les huiles essentielles sont connues à l'humanité depuis des centaines d'années, voire des millénaires. Bien avant que les parfums eux-mêmes ont été utilisés, l'action importante des huiles comme remèdes a été reconnue. Sans les soins médicaux dont nous jouissons dans notre temps, l'autoguérison était la seule option pour lutter contre des parasites ou des souffrances du corps humain. Par la suite, les huiles essentielles ont été utilisées dans la préparation de cosmétiques, de poudres, et de savons. Comme la production industrielle de produits chimiques synthétiques a commencé et a augmenté au cours du XIX^e siècle, la production d'huiles essentielles a également augmenté en raison de leur importance pour notre mode de vie (Schmidt, 2010).

Les huiles essentielles sont des produits naturels d'origine végétale ayant un très grand intérêt, et parmi plusieurs autres qualités, elles possèdent diverses propriétés biologiques. Le terme « biologique » comprend toutes les activités que ces mélanges de composés volatils (principalement les mono- et les sesquiterpénoïdes, les benzénoïdes, les phénylpropanoïdes, etc.) exercent sur les humains, les animaux et d'autres plantes (Başer et Buchbauer, 2010).

Pas tous les extraits odorants des plantes portant d'huiles essentielles se conforment à la définition d'une « huile essentielle » par l'International Standards Organization (ISO). Une huile essentielle telle que définie par la norme ISO dans le vocabulaire du document ISO 9235.2 (matières premières aromatiques d'origine naturelle) est la suivante : « Produit obtenu à partir de matières premières végétales, soit par distillation à l'eau ou à la vapeur ou, de l'épicarpe des fruits d'agrumes par un procédé mécanique, ou par distillation sèche. » (ISO/DIS 9235.2, 1997, p. 2). La distillation à la vapeur peut être réalisée avec ou sans addition d'eau dans un alambic. En revanche, une distillation sèche de la matière végétale est réalisée sans l'addition de l'eau ou de la vapeur dans l'alambic (ISO 9235, 1997).

La composition des huiles essentielles est principalement représentée par des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques et de leurs dérivés oxygénés (hydroxyles et carbonyles), avec des aldéhydes, des alcools et des esters aliphatiques. Les terpènes peuvent être considérés comme la classe la plus structurellement variée des produits naturels d'origine végétale, issus de la fusion répétitive d'unités ramifiées à cinq atomes de carbone (unités d'isoprène). À cet égard, les méthodes analytiques appliquées à la caractérisation des huiles essentielles doivent tenir compte d'un grand nombre d'espèces moléculaires. Par ailleurs, il est également d'une grande importance de souligner que le profil chimique d'une huile essentielle est étroitement lié à la procédure d'extraction employée et, par conséquent, le choix d'une méthode d'extraction appropriée devient crucial. En fonction des propriétés de la matière végétale, les techniques d'extraction suivantes peuvent être appliquées : la distillation à la vapeur (SD), éventuellement suivie par une rectification et un fractionnement, l'extraction aux solvants (SE), le fractionnement des extraits aux solvants, la macération, l'expression (pressage à froid des écorces d'agrumes), l'enfleurage, l'extraction par fluide supercritique (SFE), l'extraction par fluide sous pression, la distillation-extraction simultanée (SDE), l'extraction au Soxhlet, l'hydrodistillation par micro-ondes (MAHD), les techniques de headspace (HS) dynamique (DHS) et statique (SHS), l'évaporation des composants volatils à l'aide de solvants (SAFE), la microextraction en phase solide (SPME) et la désorption thermique directe (DTD), entre autres. De plus, l'exploitation des méthodes modernes d'analyse, tels que la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et ses techniques couplées (la spectrométrie de masse, l'olfactométrie, la chromatographie liquide, etc.), est pratiquement inévitable (d'Acampora Zellner et al., 2010).

Les antibiotiques qui affectent *Propionibacterium acnes* sont un traitement standard pour l'acné, mais la résistance aux antibiotiques se généralise (Harris, 2010). Une étude préliminaire de 126 patients a montré que l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* (chénotype thymol) appliquée localement à 2 % dans une base de crème hydrophile était plus efficace que la lotion du peroxyde de benzyle à 10 % par la réduction du nombre de lésions lorsqu'elle est appliquée deux fois par jour

pendant 4 semaines (Orafidiya et al., 2002). Un rapport ultérieur (Enshaieh et al., 2007) a jugé l'efficacité d'un gel de *Melaleuca alternifolia* à 5 % dans l'amélioration de l'acné légère à modérée, car une étude précédente (Raman et al., 1995) a démontré l'efficacité des composants de l'huile de l'arbre à thé contre *Propionibacterium acnes*.

Un certain nombre d'études ont démontré les effets *in vitro* de diverses huiles essentielles contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), par exemple, *Lippia origanoides* (dos Santos et al., 2004), *Backhousia citriodora* (Hayes et Markovic, 2002), *Mentha piperita*, *Mentha arvensis*, et *Mentha spicata* (Imai et al., 2001), et *Melaleuca alternifolia* (Carson et al., 1995).

L'huile essentielle de *Citrus aurantium* var. *amara* a été utilisée pour traiter 60 patients atteints de tinea corporis, cruris ou pedis (Ramadan et al., 1996). Un essai contrôlé randomisé en double aveugle a étudié l'efficacité de la crème de chlorhydrate de buténafine à 2 % additionnée de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* à 5 % chez 60 patients atteints d'une onychomycose des ongles (Syed et al., 1999). Après une première étude *in vitro*, qui a montré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus pauciflora* avait une forte activité fongicide contre *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum nanum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans* et *Trichophyton violaceum*, un essai *in vivo* a été entamé (Shahi et al., 2000). Les propriétés anticandida de l'huile essentielle de *Zataria multiflora* et de ses composants actifs (thymol, carvacrol et eugénol) ont été démontrées *in vitro* par Mahmoudabadi et al. (2006).

Les études *in vitro* qui ont été menées jusqu'à présent indiquent que de nombreuses huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales, mais elles ne touchent que les virus enveloppés et seulement quand ils sont à l'état libre, c'est-à-dire avant que le virus est attaché à, ou a pénétré la cellule hôte (par exemple, Schnitzler et al., 2008). Un essai contrôlé randomisé en aveugle a utilisé le gel d'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* à 6 % pour traiter l'herpès labial récurrent (Carson et al., 2001). Des enfants de moins de 5 ans ont été inclus dans un essai randomisé pour tester une solution de l'huile essentielle de *Backhousia citriodora* à 10 % v/v contre le molluscum contagiosum (causé par *Molluscipoxvirus*) (Burke et al., 2004). Une étude a été effectuée sur 60 patients qui étaient porteurs chroniques de l'hépatite B ou C. Les huiles essentielles de *Cinnamomum camphora* (eucalyptol), *Daucus carota*, *Ledum groelandicum*, *Laurus nobilis*, *Helichrysum italicum*, *Thymus vulgaris* (thuyanol), et *Melaleuca quinquenervia* ont été utilisées par voie orale dans diverses combinaisons (Giraud-Robert, 2005).

Les activités des huiles essentielles contre les microbes pathogènes dans la cavité buccale ont été documentées séparément, car il y a de nombreux rapports de pertinence. L'administration facile des huiles essentielles dans les bains de bouche, les gargarismes, et les dentifrices, et le succès de ces préparations commerciales, a sans doute mené à la popularité de cette recherche (Harris, 2010).

Rarement trouvé sur une peau saine, *Staphylococcus aureus* est habituellement présent dans la peau sèche et est l'un des facteurs qui peuvent aggraver la dermatite atopique. Les toxines et les

enzymes provenant de cette bactérie provoquent des lésions cutanées et forment un biofilm à partir de la fibrine et du glycocalyx, ce qui facilite l'adhérence à la peau et la résistance aux antibiotiques. Une première étude *in vitro* a constaté qu'un mélange de xylitol (un polyol) et de farnésol est un agent efficace contre *Staphylococcus aureus* ; le xylitol inhibe la formation de glycocalyx alors que le farnésol dissout la fibrine et réprime la croissance de *Staphylococcus aureus* sans affecter *Staphylococcus epidermidis* (Masako et al., 2005).

2.3.3. L'usage de produits végétaux contre les maladies buccodentaires

Il y a eu de nombreux rapports de l'utilisation des plantes traditionnelles et des produits naturels pour le traitement des maladies buccodentaires. Beaucoup de médicaments dérivés de plantes utilisés dans les systèmes médicaux traditionnels sont enregistrés dans les pharmacopées comme agents utilisés pour traiter les infections et un certain nombre d'entre eux a été récemment étudié pour leur efficacité contre les pathogènes microbiens buccaux. Les activités antimicrobiennes générales des plantes médicinales et des produits végétaux, tels que les huiles essentielles, ont été déjà examinées (Palombo, 2009).

De toutes les maladies buccodentaires, l'incidence de celles qui ont une étiologie microbienne est la plus forte dans toutes les régions du monde. De nombreuses plantes médicinales traditionnelles ont été évaluées pour leur application potentielle dans la prévention ou le traitement des maladies buccodentaires. Un certain nombre d'études a étudié l'activité d'extraits et de produits végétaux contre des agents pathogènes buccaux spécifiques, tandis que d'autres ont porté sur la capacité des produits à inhiber la formation de biofilms dentaires en réduisant l'adhérence des microorganismes pathogènes à la surface de la dent, qui est un événement primaire dans la formation de la plaque dentaire et la progression de la carie dentaire et des maladies parodontales (Palombo, 2009).

Il y a eu de nombreuses études *in vitro* qui ont étudié l'activité des substances végétales naturelles contre les bactéries buccales. Ces études ont porté sur les bactéries connues pour leur rôle dans l'étiologie des maladies buccodentaires. Les premières études ont clairement démontré qu'un certain nombre de substances a le potentiel d'être utilisé dans l'industrie dentaire, compte tenu de leur activité contre les bactéries cariogènes et les bactéries associées aux maladies parodontales. Les substances qui présentaient une activité comprenaient les extraits d'épices et de plantes aromatiques, tels que l'huile d'écorce de cannelle, les extraits de macis de Papouasie et l'huile de clou de girofle et les constituants de ces extraits, tels que l'aldéhyde cinnamique et l'eugénol (Palombo, 2009).

2.3.4. Huiles essentielles ayant une activité sur les bactéries buccales

Les propriétés antibactériennes des huiles essentielles sont bien connues et l'activité contre les bactéries présentes dans la cavité buccale, y compris les pathogènes, a été documentée. En effet, il est prouvé que les bains de bouche commerciaux contenant des huiles essentielles sont utiles dans le

contrôle à long terme de la plaque et de la gingivite légère à modérée et sont préférés à ceux contenant de la chlorhexidine pour une utilisation quotidienne à long terme. Un certain nombre d'études récentes ajoute à la preuve que les huiles essentielles peuvent être des additifs appropriés dans les produits utilisés pour le maintien de l'hygiène buccodentaire ou la prévention des maladies buccodentaires (Palombo, 2009).

L'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (Myrtacées), connue sous le nom d'huile d'arbre à thé (HAT), a été utilisée en médecine depuis de nombreuses années. L'HAT a des propriétés antimicrobiennes et est utilisée dans le traitement superficiel d'infections cutanées. L'activité de l'HAT contre une vaste collection d'isolats bactériens buccaux a été étudiée par Hammer et *al.* (2003) qui ont déterminé les valeurs CMI et CMB dans la gamme de 0,003-2,0 % (v/v). En outre, les essais de mise à mort par rapport au temps ont montré que l'exposition de *S. mutans* et *Lactobacillus rhamnosus* à 0,5 % (v/v) d'HAT a entraîné une réduction de >3 log de cellules viables dans les 30 s. L'activité de l'HAT contre des pathogènes buccaux a été prise en charge dans une étude portant sur elle et d'autres huiles essentielles, y compris l'huile de manuka, l'huile d'eucalyptus, l'huile de lavande et l'huile de romarin. En plus de leurs activités inhibitrices et bactéricides, la plupart des huiles étaient capables d'inhiber l'adhérence de *S. mutans* et de *P. gingivalis* (Palombo, 2009).

Les huiles essentielles sont également capables d'augmenter l'activité de la chlorhexidine. Lorsqu'elles sont utilisées en combinaison, les huiles essentielles de cannelle et de manuka étaient en mesure de réduire considérablement la quantité de chlorhexidine nécessaire pour inhiber la croissance des pathogènes buccaux. Cette activité accrue a été également observée contre des cultures bactériennes sous forme de biofilms. Des réductions entre 4 et 10 fois de la quantité de chlorhexidine nécessaire pour inhiber les bactéries du biofilm ont été observées lorsque la chlorhexidine est utilisée en combinaison avec les huiles de cannelle, de manuka et de *Leptospermum morrisonii* (Palombo, 2009).

Les huiles essentielles d'*Artemisia lavandulaefolia* (Astéracées), d'*A. capillaris*, d'*A. scoparia* et d'*A. feddei* se sont révélés d'inhiber la croissance des bactéries buccales, avec la plus grande activité généralement observée contre les anaérobies strictes. Cependant, les huiles ont montré également une forte activité contre d'autres groupes, y compris les anaérobies facultatifs et les bactéries microaérophiles. Une étude récente a rapporté que l'huile essentielle de *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) a montré une forte activité contre toutes les bactéries testées, surtout les bactéries buccales, avec une CMI de 0,025-0,5 mg/ml (Palombo, 2009).

Bien que ces résultats *in vitro* sont très encourageants, la toxicité connue de l'HAT lorsqu'elle est ingérée suggère que d'autres études de la sécurité de cette huile et d'autres huiles essentielles pour utilisation dans la cavité buccale doivent être prises en compte. Dans ce contexte, Takarada et *al.* (2004) ont montré que les huiles essentielles utilisées dans leur étude avaient peu d'effet sur les cellules endothéliales de la veine ombilicale *in vitro* lors du test à une concentration de 0,2 % (v/v) bien comprise entre les valeurs CMI et CMB contre certaines bactéries testées (Palombo, 2009).

2.3.5. Méthodes pour la réduction de la formation des biofilms dentaires

La plaque dentaire est un exemple d'un biofilm bactérien spécialisé qui se développe sur la surface des dents, les restaurations dentaires, les prothèses et les implants. Les bactéries colonisantes qui composent le consortium du biofilm produisent des acides organiques tels que l'acide lactique, en métabolisant les glucides ce qui conduit à la formation de la carie dentaire. La plaque est également impliquée dans l'étiologie des maladies parodontales. Un certain nombre de méthodes a été utilisé pour évaluer le potentiel des produits naturels pour réduire ou éliminer les biofilms buccodentaires. Contrairement aux méthodes utilisées pour étudier les propriétés antimicrobiennes (qui impliquent la mise à mort des bactéries d'essai), ces méthodes sont utilisées pour évaluer la capacité des produits à essai pour éviter l'adsorption ou l'adhérence des bactéries aux surfaces (la phase initiale de la formation du biofilm) ou pour empêcher la synthèse de la couche insoluble de polysaccharides (fructanes et glucanes) par l'activité fructosyltransférase et glucosyltransférase dépendante du saccharose des bactéries colonisantes (la seconde étape irréversible de la formation du biofilm). Ces enzymes scindent le saccharose et transfèrent la fraction glucose à un polymère de glucose en formant des polysaccharides extracellulaires fortement adhésifs qui permettent aux bactéries de se fixer aux surfaces dentaires. Les agents d'anti-adhérence peuvent être préférables à ceux qui sont bactéricides ainsi que la pression sélective conduisant à la résistance et la prolifération de bactéries résistantes pourrait être évitée (Palombo, 2009).

L'adhésion bactérienne peut être évaluée par un certain nombre de tests. Les bactéries radiomarquées sont ajoutés aux billes d'hydroxyapatite (HA) à revêtement de salive ou de protéines en présence du composé d'essai. Après incubation, l'HA est lavée pour éliminer les bactéries faiblement liées et les échantillons sont comptés dans un compteur à scintillation. L'adhérence aux surfaces revêtues de protéines peut aussi être étudiée en utilisant des plaques de microtitration, dans lesquelles les puits sont revêtus de collagène, de fibrinogène humain ou de sérum humain et les bactéries ensemble avec le matériel d'essai (à différentes concentrations) sont ajoutés. Après incubation, les bactéries non liées sont éliminées par aspiration, les cellules adhérentes sont fixées avec du méthanol et colorées au cristal violet et l'absorbance à 550 nm est enregistrée. L'adhérence aux surfaces en verre peut être évaluée de la même manière (Palombo, 2009).

L'inhibition de la formation de biofilms par des pathogènes buccaux a été évaluée par des essais de plaques de culture cellulaire où les bactéries sont incubées en présence ou en absence de composés à tester. Après une incubation appropriée, les bactéries libres sont retirées des puits de microtitration par aspiration, les biofilms sont colorés au cristal violet et l'absorbance est mesurée pour indiquer le niveau de formation de biofilms. La microscopie électronique à balayage a été utilisée pour évaluer visiblement l'étendue de la formation de biofilms en présence et en absence du produit à tester. Sinon, les effets inhibiteurs sur les biofilms ont été évalués en mesurant le niveau d'activité des enzymes bactériennes synthétisées lors de la formation de biofilms buccodentaires, en particulier la fructosyltransférase et la glucosyltransférase, ou l'activité des lectines liées aux glucanes (Palombo, 2009).

3

Matériel et méthodes

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal

Vingt espèces et sous-espèces ont été récoltées de différentes localités situées dans la région de Tlemcen à différents stades du cycle végétatif de juillet à octobre 2011 (Tableau 3). Ces plantes se trouvent en abondance à l'état sauvage et certaines d'entre elles sont également cultivées telles que *Artemisia arborescens* et *Mentha piperita*. La Figure 2 représente bien la distribution géographique des lieux de récolte. La majorité des plantes n'ont pas une histoire dans l'usage traditionnel pour la cavité buccale sauf *Visnaga daucooides* dont les gens utilisent les décoctions d'ombelles mures pour rincer la bouche. Toutes les plantes appartiennent à quatre grandes familles connues pour leur richesse en plantes aromatiques et médicinales, à savoir, les Lamiacées (ou Labiées), les Apiacées (ou Ombellifères), les Astéracées (ou Composées) et les Rutacées.

L'identification des plantes (présentées dans l'Annexe 1) a été réalisée au Laboratoire de Botanique à l'Université de Tlemcen et confirmée par la bibliographie qui porte sur la flore nord-africaine (Quézel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1983 ; Fennane et *al.*, 2007 ; Le Floch et Boulos, 2008). Les noms scientifiques des plantes sont cités dans leur forme acceptée à l'heure actuelle par référence aux différentes bases de données sur le Web (Convention on Biological Diversity, Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève, Global Compositae Checklist, International Legume Database & Information Service, International Organization for Plant Information, International Plant Names Index, Kew Royal Botanic Gardens, Missouri Botanical Garden, New York Botanical Garden, South African National Biodiversity Institute, Tela Botanica, et United Nations Decade on Biodiversity). Les différentes nomenclatures considérées comme synonymes ou citations hétérotypiques (citations erronées par confusion) sont résumées dans l'Annexe 2. Les différentes appellations locales des plantes étudiées sont rapportées dans l'Annexe 3.

Le matériel végétal était constitué uniquement de la partie aérienne avec une prédominance de certains organes. Pour réaliser l'extraction des huiles essentielles, le matériel végétal a été utilisé à l'état frais pour minimiser la perte de composés très volatils et garder la haute qualité de ces huiles essentielles (Díaz-Maroto et *al.*, 2002-2004 ; Birdi et *al.*, 2006 ; Schmidt, 2010).

3.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928). La matière végétale fraîche (200-400 g) est ajoutée à l'eau dans un ballon de 2 l. Après l'extraction du maximum de l'huile essentielle, la partie huileuse flottante est récupérée à partir du dispositif Clevenger avec un peu d'hydrolat dans un tube à essai. Ensuite, cette partie huileuse est récupérée directement du tube à essai à l'aide d'une pipette Pasteur, dans le cas d'une grande quantité. Sinon, la petite quantité est diluée dans de l'éther diéthylique pour faciliter sa récupération. Dans les deux cas, les extraits sont séchés avec du sulfate de magnésium ($MgSO_4$) puis stockés dans des tubes à hémolyse en verre scellés à +4 °C.

Tableau 3. Données sur les espèces végétales étudiées.

N° Espèce	Appellation locale	Famille	Lieu de récolte	Altitude (m)	Pluviométrie* (mm/an)	Date de récolte	Organes étudiés (prédominants)
1 <i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) Breistr.	<i>nounkha</i>	Apiacées	Lalla Setti, Mansourah	1010	450	Juillet 2011	feuilles, tiges, (fleurs)
2 <i>Artemisia arborescens</i> (V aill.) L.	<i>chehba</i>	Astéracées	Sidi Yahia, Sidi Medjahed	550	400	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
3 <i>Artemisia herba-alba</i> Asso	<i>chih</i>	Astéracées	Sidi Medjahed, Sidi Medjahed	460	400	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
4 <i>Calamintha nepeta</i> (L.) Savi subsp. <i>nepeta</i>	<i>nabta</i>	Lamiacées	Sidi Yahia, Sidi Medjahed	500	400	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
5 <i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i> (Desf.) Ball	<i>semnaria</i>	Apiacées	Benthalha, Ain Kebira	410	450	Juillet 2011	fleurs, (semences)
6 <i>Daucus crotitius</i> Desf.	<i>bouzeffour</i>	Apiacées	Ain Ghezal, Hammam Boughrara	660	450	Juillet 2011	fleurs, (semences)
7 <i>Dittrichia graveolens</i> (L.) Greuter	<i>magraman seghir</i>	Astéracées	Bouhanak, Mansourah	710	450	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
8 <i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i> (Ucria) Bég.	<i>besbas</i>	Apiacées	Bouhanak, Mansourah	780	450	Juillet 2011	feuilles, (tiges), fleurs
9 <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. subsp. <i>vulgare</i>	<i>besbas</i>	Apiacées	Mehrez, Fellaoucene	260	450	Juillet 2011	feuilles, (tiges), fleurs
10 <i>Lavandula dentata</i> L. var. <i>dentata</i>	<i>helhal</i>	Lamiacées	Sidi Yahia, Sidi Medjahed	580	400	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
11 <i>Lavandula stoechas</i> L. subsp. <i>stoechas</i>	<i>helhal</i>	Lamiacées	Zarifet, Mansourah	1010	450	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
12 <i>Mentha × piperita</i> L.	<i>naânaâ lefour</i>	Lamiacées	Ouled Charaf, Maghnia	400	450	Octobre 2011	(feuilles), tiges, fleurs
13 <i>Mentha pulegium</i> L.	<i>fleïou</i>	Lamiacées	Oued Nachef, Terny Beni Hdiel	1150	450	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
14 <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. subsp. <i>suaveolens</i>	<i>domran</i>	Lamiacées	Hennaya, Hennaya	380	450	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
15 <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Letsw.	<i>zâtâr lehmîr</i>	Lamiacées	Houanet, Djebala	680	450	Juillet 2011	(feuilles), tiges, fleurs
16 <i>Rosmarinus officinalis</i> L. subsp. <i>officinalis</i>	<i>barekka</i>	Lamiacées	Honaïne, Honaïne	90	400	Juillet 2011	(feuilles), tiges
17 <i>Ruta angustifolia</i> Pers.	<i>fîdjel</i>	Rutacées	Carriere, Beni Bahdel	620	400	Octobre 2011	(feuilles), tiges
18 <i>Thymbra capitata</i> (L.) Cav.	<i>zâtâr el oued</i>	Lamiacées	El Kouidia, Tlemcen	640	450	Juillet 2011	feuilles, tiges, (fleurs)
19 <i>Thymus pallescens</i> de Noé	<i>zâtâr</i>	Lamiacées	Lalla Setti, Mansourah	1020	450	Juillet 2011	feuilles, tiges, (fleurs)
20 <i>Visnaga daucoides</i> Gaertn.	<i>khella</i>	Apiacées	Bouhanak, Mansourah	700	450	Juillet 2011	(fleurs), semences

* Taux de précipitations annuelles totales en 2011 selon l'Office National de Météorologie d'Algérie. Consulté en mars 2012 (<http://www.meteo.dz/>).

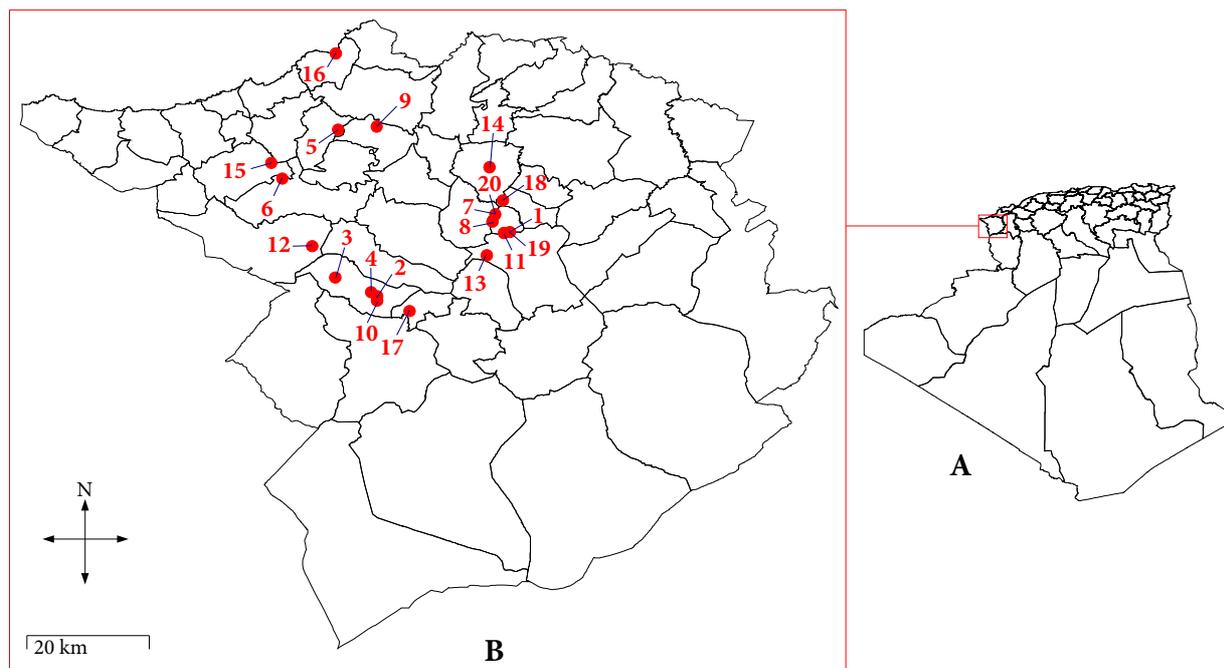


Figure 2. Répartition géographique des lieux de récolte. **A.** Carte administrative de l'Algérie. **B.** Carte administrative de la wilaya de Tlemcen. Les numéros représentent les espèces végétales décrites dans le Tableau 3.

3.3. Souches et milieux

Cinq souches ont été choisies, une fongique et quatre bactériennes. La souche fongique était *Candida albicans* ATCC 10231 qui est un champignon de type levure. Parmi les souches bactériennes, il y a deux à Gram positif qui sont *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et deux à Gram négatif qui sont *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. La pureté des souches a été vérifiée par repiquage dans leurs milieux de culture sélectifs en prenant à chaque fois des colonies distinctes, où *C. albicans* a été cultivée sur gélose Sabouraud (Fluka®, Inde) additionnée de chloramphénicol (0,5 g/l) (Calbiochem®, Allemagne) et incubée à 37 °C pendant 48 h, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* ont été cultivées sur gélose MacConkey (Fluka®, Inde) et incubées à 37 °C pendant 24 h, *S. aureus* sur gélose Chapman (Fluka®, Suisse) à 37 °C pendant 24 h, et *E. faecalis* sur gélose Bile Esculine (Fluka®, Suisse) à 37 °C pendant 24 h.

Pour préparer les suspensions bactériennes, les colonies purifiées précédemment sont prélevées et ensemencées dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon Cœur-Cervelle (Conda Pronadisa™, Espagne) puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, les suspensions sont bien agitées à l'aide du vortex puis diluées pour standardisation, de sorte que l'inoculum sera ajusté à une turbidité standard de 0,5 McFarland, ce qui correspond à une densité optique de 0,08-0,13 à une longueur d'onde de 625 nm. La concentration finale de l'inoculum sera approximativement de l'ordre de 10^8 ufc/ml (CLSI, 2006a).

3.4. Détermination des zones d'inhibition

La méthode de diffusion par disques sur gélose (méthode de Kirby-Bauer) a été utilisée pour évaluer la bioactivité des huiles essentielles par la formation de zones d'inhibition (CLSI, 2006a). Des disques en papier filtre à 6 mm de diamètre sont imprégnés de 10 µl d'huile essentielle et déposés sur la surface gélosée pré-ensemencée par écouvillonnage avec de la suspension microbienne standardisée. Les souches bactériennes sont ensemencées sur gélose Müller-Hinton (Fluka®, Inde) et incubées à 37 °C pendant 24 h. Tandis que la souche fongique est ensemencée sur gélose Sabouraud (Fluka®, Inde) supplémentée de chloramphénicol et incubée à 37 °C pendant 48 h. Des standards, à savoir, la gentamicine à 10 µg/disque (Oxoid™, Angleterre) et l'amphotéricine B à 20 µg/disque (Sigma-Aldrich®, Suisse) ont été testés dans les mêmes conditions. Après incubation, les résultats sont lus par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm). L'expérience a été réalisée en trois exemplaires.

3.5. Détermination des CMI de la croissance

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées à l'aide des plaques de microtitration à 96 puits (CLSI, 2006b). Les inocula standardisés à 10^8 ufc/ml sont dilués à 1/1000 par le même milieu de culture (bouillon Cœur-Cerveille) pour avoir la concentration de 10^5 ufc/ml. Un maximum de deux huiles essentielles est testé en trois exemplaires sur une seule souche microbienne dans chaque plaque. Les puits de la première rangée verticale sont remplis par 100 µl de la suspension microbienne standardisée à 10^5 ufc/ml comme premier témoin positif. Les puits de la deuxième rangée sont remplis par 100 µl d'un mélange contenant du Tween 80 dilué à 0,1 % (v/v) dans la suspension microbienne standardisée à 10^5 ufc/ml afin de vérifier l'effet du Tween 80 sur les souches testées.

Le reste des dix rangées est rempli par les différentes concentrations de chaque huile essentielle. Pour cela, une série de dilutions au 1/2 a été préparée à partir d'une solution mère contenant 400 µg/ml d'huile essentielle et 1 % de Tween 80 dilués ensemble dans le bouillon Cœur-Cerveille (BHIB). Les autres solutions filles contenaient déjà un mélange de Tween 80 dilué à 1 % dans le BHIB (dans la même concentration que la solution mère), dans un volume total égalant à la moitié du volume total de la solution mère, pour garder la concentration de Tween 80 constante à 1 %. Les dix puits dans chaque rangée sont remplis par 90 µl de suspension puis 10 µl de la concentration correspondante venant de la plus faible à la plus grande concentration, dans une gamme finale de 0,08-40 µg/ml. La concentration finale du Tween 80 dans les puits était 0,1 %. La dernière rangée horizontale a été remplie par 100 µl de BHIB dans chaque puits comme témoin négatif. Pour les antibiotiques standards (gentamicine et amphotéricine B (Sigma-Aldrich®, Suisse)), la procédure se fait de la même manière (à partir d'une solution mère contenant 400 µg/ml de standard sans l'addition du Tween 80) pour avoir une gamme de concentrations finale de 0,08-40 µg/ml.

Après incubation des plaques à 37 °C pendant 48 h comme un temps maximal pour la formation de biofilms, les CMI de la croissance sont déterminées en tant que la plus faible

concentration du produit à tester (l'huile essentielle ou le standard) pour laquelle la croissance microbienne n'est pas observée à l'œil nu (CLSI, 2006b).

3.6. Détermination des CMI de la formation de biofilms

Les CMI de la formation de biofilms ont été déterminées selon la méthode de Labrecque et *al.* (2006). Après incubation à 48 h et lecture des CMI de la croissance, les cellules microbiennes flottantes sont éliminées des puits par aspiration à l'aide d'une seringue. Les puits sont ensuite rincés trois fois à l'eau distillée pour éliminer les cellules faiblement adhérentes. Un volume de 100 µl de cristal violet à 0,4 % est ajouté et laissé pendant 15 min pour colorer les biofilms. Les puits sont ensuite rincés quatre fois à l'eau distillée pour éliminer le cristal violet non lié et séchés à 37 °C pendant 2 h. Après l'ajout d'un volume de 100 µl d'éthanol à 95 % (v/v) dans chaque puits, la plaque est agitée pendant 10 min afin de libérer la coloration à partir des biofilms. Les CMI de la formation de biofilms sont déterminées en tant que la plus faible concentration du produit à tester (l'huile essentielle ou le standard) pour laquelle la coloration n'est pas observée à l'œil nu (Beckloff et *al.*, 2007).

4

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

4.1. Rendements en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles en pourcentage (%) volume/poids (v/p) calculés par rapport au poids frais (classés par ordre décroissant) et la durée d'extraction faite pour chaque espèce végétale sont récapitulés dans le Tableau 4.

Tableau 4. Rendements en huiles essentielles.

Espèce	Rendement (% v/p)	Durée (h)
<i>Ruta angustifolia</i>	3,08	2
<i>Artemisia herba-alba</i>	2,46	2
<i>Thymus pallescens</i>	2,06	2
<i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	2,03	3
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	1,93	2
<i>Mentha pulegium</i>	1,76	2
<i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	1,70	2
<i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	1,68	3
<i>Thymbra capitata</i>	1,62	3
<i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	1,60	3
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	1,55	4
<i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	1,53	2
<i>Mentha piperita</i>	1,43	2
<i>Ammoides pusilla</i>	1,35	2
<i>Artemisia arborescens</i>	1,24	2
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	1,22	3
<i>Daucus crinitus</i>	1,04	4
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	0,82	4
<i>Dittrichia graveolens</i>	0,77	3
<i>Visnaga daucoides</i>	0,69	4

L'espèce *R. angustifolia* avait le plus grand rendement en huile essentielle (3,08 %) pendant 2 h d'extraction. Cette huile était de très légère viscosité, à couleur transparente et se congèle à 4 °C. Les autres huiles avaient une couleur transparente à jaune claire à l'exception de celle d'*A. arborescens* qui était de couleur bleue. Cette coloration est, sans doute, en fonction des composants majoritaires de ces huiles essentielles. Il est à remarquer aussi que la plupart des espèces appartenant à la famille des Lamiacées avaient un rendement remarquable en huiles essentielles et à courte durée d'extraction. Les huiles essentielles des Lamiacées ont une odeur très agréable ce qui peut leur qualifier d'être de bons agents aromatisants particulièrement en industrie cosmétique. Les ombelles des espèces appartenant à la famille des Apiacées constituent une bonne source d'huiles essentielles. Plusieurs études ont rapporté les rendements en huiles essentielles par rapport au poids frais (Tableau 5). Ces rendements semblent être variables à cause de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques (Marotti et al., 1993 ; Bowes et Zheljaskov, 2004 ; Hassiotis et al., 2010 ; Biswas et al., 2011 ; da Silva et al., 2012).

Tableau 5. Rendements rapportés dans la littérature par rapport au poids frais.

Espèce	Rendement (%)	Durée (h)	Référence
<i>Artemisia arborescens</i>	0,33*	3	Militello et al., 2011
	0,35*	3	Militello et al., 2012
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	0,10-2,63*	8	Saad et al., 1995
<i>Dittrichia graveolens</i>	0,04-0,07*	3	Ghosn et al., 2006
<i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	0,58-0,89	3	Bousmaha et al., 2006
<i>Mentha pulegium</i>	0,33-0,35	3	Agnihotri et al., 2005
	0,27*	–	Mahboubi et Haggi, 2008
<i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	0,14-0,40	–	Soliman et al., 1994
<i>Thymbra capitata</i>	0,60	4	Miguel et al., 2005
<i>Visnaga daucooides</i>	1,30	3	Khalfallah et al., 2011

* : rendement en pourcentage volume/poids (% v/p). – : durée d'extraction non déterminée.

4.2. Diamètres des zones d'inhibition

Les résultats obtenus (exprimés en moyennes \pm écarts-types) sont rapportés dans le Tableau 6 et illustrés sous forme d'histogramme par la Figure 3.

Tableau 6. Diamètres des zones d'inhibition.

N° Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
1 <i>Ammoides pusilla</i>	50 \pm 2	35 \pm 2	75 \pm 2	15 \pm 1	7 \pm 0
2 <i>Artemisia arborescens</i>	15 \pm 1	10 \pm 1	19 \pm 1	–	–
3 <i>Artemisia herba-alba</i>	18 \pm 1	14 \pm 1	32 \pm 2	8 \pm 1	–
4 <i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	20 \pm 1	12 \pm 1	47 \pm 2	8 \pm 0	–
5 <i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	9 \pm 0	8 \pm 0	16 \pm 1	–	–
6 <i>Daucus crinitus</i>	10 \pm 0	–	14 \pm 1	–	–
7 <i>Dittrichia graveolens</i>	24 \pm 2	12 \pm 2	21 \pm 1	–	–
8 <i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	23 \pm 3	11 \pm 0	21 \pm 1	–	–
9 <i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	37 \pm 1	10 \pm 1	16 \pm 2	–	–
10 <i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	21 \pm 2	16 \pm 1	34 \pm 1	8 \pm 1	–
11 <i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	18 \pm 1	10 \pm 1	24 \pm 2	10 \pm 2	8 \pm 1
12 <i>Mentha piperita</i>	28 \pm 2	10 \pm 1	19 \pm 1	8 \pm 1	–
13 <i>Mentha pulegium</i>	23 \pm 1	12 \pm 2	37 \pm 1	9 \pm 0	–
14 <i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	17 \pm 1	10 \pm 0	29 \pm 1	9 \pm 0	–
15 <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	39 \pm 1	31 \pm 1	68 \pm 2	16 \pm 1	–
16 <i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	41 \pm 1	14 \pm 1	54 \pm 2	10 \pm 1	8 \pm 1
17 <i>Ruta angustifolia</i>	16 \pm 2	8 \pm 0	14 \pm 1	–	–
18 <i>Thymbra capitata</i>	42 \pm 2	29 \pm 1	60 \pm 2	20 \pm 1	–
19 <i>Thymus pallescens</i>	40 \pm 2	34 \pm 2	63 \pm 2	23 \pm 2	–
20 <i>Visnaga daucooides</i>	16 \pm 1	11 \pm 1	10 \pm 1	–	–
Standard	20 \pm 1	16 \pm 1	17 \pm 1	20 \pm 2	15 \pm 1

Les résultats sont moyenne \pm écart-type des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm) de trois répétitions. Standard : gentamicine (10 μ g/disque) pour les souches bactériennes, amphotéricine B (20 μ g/disque) pour la souche fongique. – : pas de zone d'inhibition.

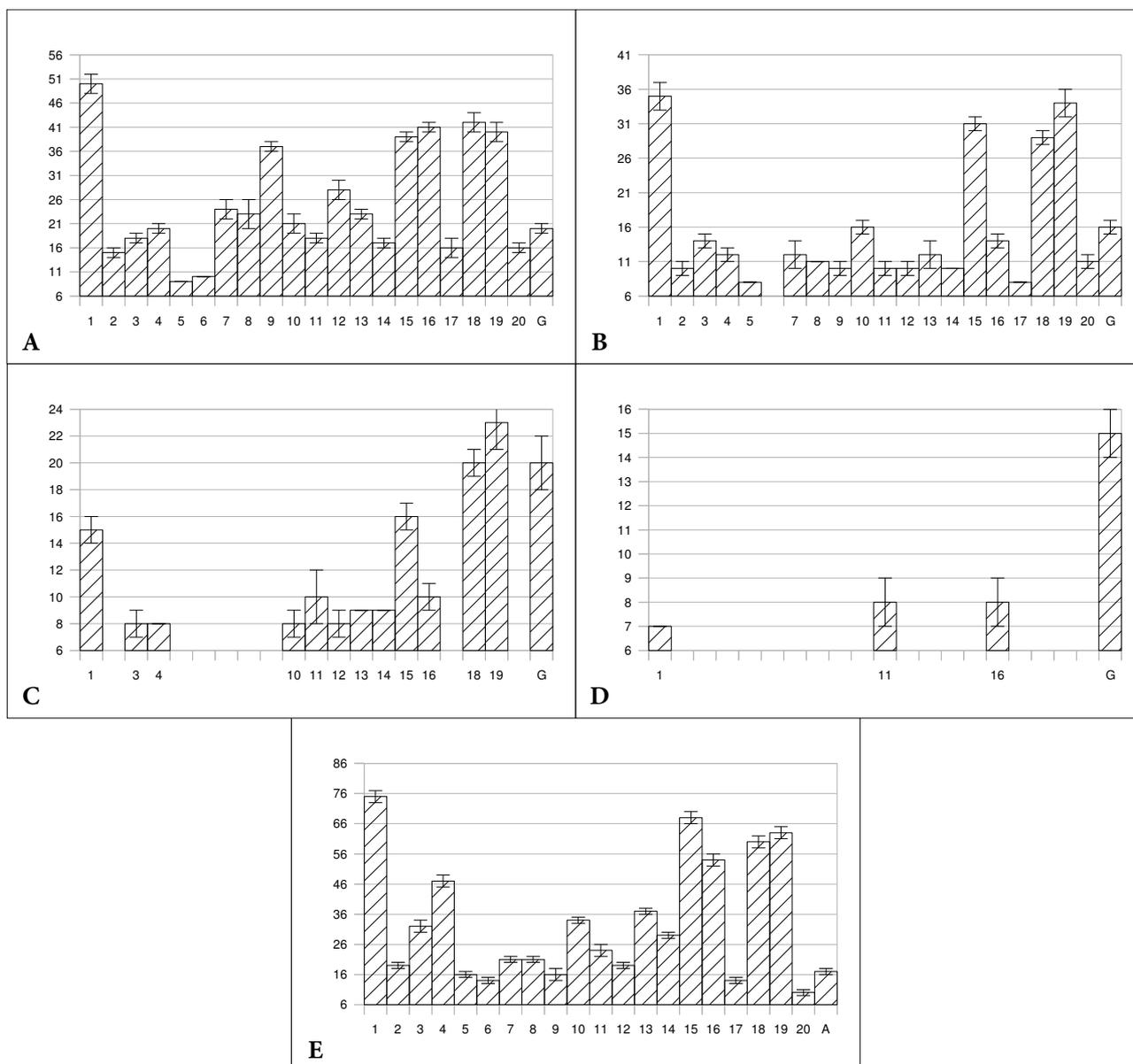


Figure 3. Diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm) pour (A) *S. aureus*, (B) *E. faecalis*, (C) *K. pneumoniae*, (D) *P. aeruginosa* et (E) *C. albicans*. Les huiles essentielles portent la numérotation du Tableau 6. G : gentamicine à 10 µg/disque. A : amphotéricine B à 20 µg/disque.

Ce qui apparaît, au premier abord, c'est la sensibilité de la souche fongique et des deux souches bactériennes à Gram positif vis-à-vis de la majorité des huiles essentielles étudiées. Les bactéries à Gram négatif étaient plus résistantes, surtout l'espèce *P. aeruginosa*, alors qu'on note une sensibilité claire de *K. pneumoniae* vis-à-vis des huiles d'*A. pusilla* (15 mm), d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* (16 mm), de *T. capitata* (20 mm) et de *T. pallescens* (23 mm).

C. albicans montre la plus grande sensibilité par rapport aux autres souches bactériennes, avec un diamètre qui dépasse 50 mm, tel que remarqué pour les huiles d'*A. pusilla* (75 mm), d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* (68 mm), de *T. palleescens* (63 mm), de *T. capitata* (60 mm) et de *R. officinalis* subsp. *officinalis* (54 mm). Les huiles essentielles d'*A. pusilla*, de *F. vulgare* subsp. *vulgare*, de *M. piperita*, d'*O. vulgare* subsp. *vulgare*, de *R. officinalis* subsp. *officinalis*, de *T. capitata* et de *T. palleescens* possèdent le plus remarquable effet inhibiteur sur *S. aureus* avec des diamètres de 50 mm, 37 mm, 28 mm, 39 mm, 41 mm, 42 mm et 40 mm respectivement, et celles d'*A. pusilla*, d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum*, de *T. capitata* et de *T. palleescens* sur *E. faecalis* avec des diamètres de 35 mm, 31 mm, 29 mm et 34 mm respectivement. Pour *C. albicans*, d'autres huiles essentielles avaient un effet inhibiteur remarquable telles que celles d'*A. herba-alba* (32 mm), de *C. nepeta* subsp. *nepeta* (47 mm), de *L. dentata* var. *dentata* (34 mm), de *M. pulegium* (37 mm) et de *M. suaveolens* subsp. *suaveolens* (29 mm).

En comparant nos résultats à ceux des antibiotiques et selon les normes du CLSI (Tableau 7) (en absence des normes pour les substances naturelles d'origine végétale à activité antimicrobienne), on remarque que toutes les souches microbiennes de référence sont considérées sensibles vis-à-vis des standards testés (amphotéricine B et gentamicine) avec un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 15 mm. Cependant, la sensibilité aux huiles essentielles (d'*A. pusilla*, de *C. nepeta* subsp. *nepeta*, de *M. pulegium*, d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum*, de *R. officinalis* subsp. *officinalis*, de *T. capitata* et de *T. palleescens*) dépasse pour certaines souches deux fois celle aux standards.

Tableau 7. Fourchette thérapeutique pour les espèces microbiennes étudiées selon CLSI.

Espèce	Agent antimicrobien	Contenu du disque (µg)	Diamètre de la zone (mm)			Valeurs critiques de la CMI (µg/ml)		Référence
			R	I	S	R	S	
<i>C. albicans</i>	Amphotéricine B	10	< 10	10-14	≥ 15	≥ 4	≤ 1	Rosco Diagnostica, 2007
<i>S. aureus</i>	Gentamicine	10	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	CLSI, 2007
<i>E. faecalis</i>	Gentamicine	120	6	7-9	≥ 10	> 500	≤ 500	CLSI, 2007
<i>K. pneumoniae</i>	Gentamicine	10	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	CLSI, 2007
<i>P. aeruginosa</i>	Gentamicine	10	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	CLSI, 2007

R : résistant. I : intermédiaire. S : sensible.

L'effet inhibiteur le plus remarquable sur l'ensemble des souches étudiées est celui de l'huile essentielle d'*A. pusilla*, d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum*, de *R. officinalis* subsp. *officinalis*, de *T. capitata* et de *T. palleescens*. Plusieurs auteurs ont rapporté l'effet des huiles essentielles de ces plantes par la méthode de diffusion sur gélose sur les souches microbiennes étudiées dans ce travail. Les espèces *S. aureus* et *C. albicans* étaient sensibles aux huiles d'*A. pusilla* (Laouer et al., 2003), d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* (Bekhechi et al., 2008 ; Bendahou et al., 2008), et de *R. officinalis* subsp. *officinalis* (Soliman et al., 1994 ; Kabouche et al., 2005) où les plus résistantes étaient *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*. D'autre part, l'huile essentielle de *T. capitata* était efficace sur *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *C. albicans* (Bounatirou et al., 2007 ; Akrouit et al., 2010 ; Guedri

Mkaddem et al., 2010), et celle de *T. pallescens* sur *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* (Kabouche et al., 2005 ; Bekhechi et al., 2007). Alors qu'on note la résistance d'*E. faecalis* vis-à-vis de l'huile de *R. officinalis* subsp. *officinalis* (Bernardes et al., 2010) et de *P. aeruginosa* à celle de *T. capitata* (Akrouit et al., 2010).

D'autres auteurs ont rapporté la sensibilité de *S. aureus*, d'*E. faecalis* et de *C. albicans* aux huiles d'*A. herba-alba* (Akrouit et al., 2010 ; Mighri et al., 2010a) et de *D. crinitus* (Lanfranchi et al., 2010), l'effet de l'huile de *L. dentata* var. *dentata* sur *S. aureus* et *K. pneumoniae* (Imelouane et al., 2009), de *L. stoechas* subsp. *stoechas* sur *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* (Gören et al., 2002), de *M. pulegium* sur *S. aureus*, *C. albicans* et *P. aeruginosa* (Mahboubi et Haghi, 2008 ; Shahmohamadi et al., 2011), et celle de *V. daucooides* sur *S. aureus* et *K. pneumoniae* (Khalfallah et al., 2011). Alors qu'il y a l'absence d'effet pour les huiles d'*A. herba-alba* sur *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* (Akrouit et al., 2010) et de *L. stoechas* subsp. *stoechas* sur *E. faecalis* et *C. albicans* (Gören et al., 2002), et la résistance de *K. pneumoniae* à l'huile essentielle de *D. crinitus* (Lanfranchi et al., 2010) et de *P. aeruginosa* aux huiles de *L. dentata* var. *dentata* (Imelouane et al., 2009) et de *V. daucooides* (Khalfallah et al., 2011). La majorité des résultats rapportés dans cette étude sont, donc, concordants avec ceux de la littérature.

La composition de l'huile essentielle et le pourcentage des molécules bioactives jouent un rôle très important dans son activité. Il faut également noter que la méthode de diffusion sur gélose ne révèle pas la vraie activité de l'huile essentielle, à cause de la concentration inconnue lors du dépôt de l'huile brute et aussi du taux de diffusion qui diffère entre les différentes huiles et qui est un facteur très important dans la détermination de l'activité. Ce n'est donc pas toujours vrai que l'huile essentielle qui montre un faible diamètre d'inhibition possède une faible activité et vice-versa, c'est pourquoi qu'il est nécessaire de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) par dilution en bouillon.

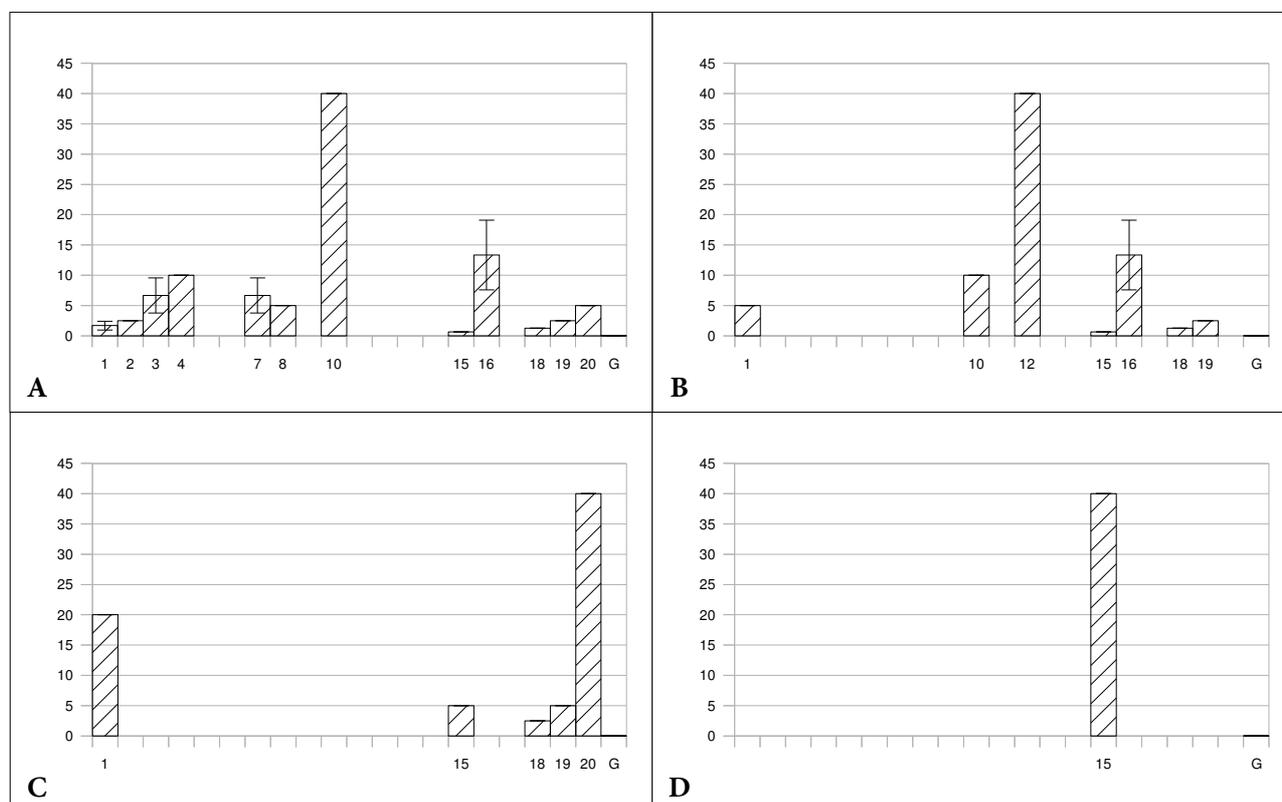
4.3. CMI de la croissance

Les résultats des différentes CMI obtenus par la méthode de microdilution en bouillon sont consignés dans le Tableau 8 et illustrés par la Figure 4.

Tableau 8. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance.

N° Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
1 <i>Ammoides pusilla</i>	1,67 ± 0,72	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	–
2 <i>Artemisia arborescens</i>	2,50 ± 0,00	–	–	–	–
3 <i>Artemisia herba-alba</i>	6,67 ± 2,89	–	5,00 ± 0,00	–	–
4 <i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	10,00 ± 0,00	–	5,00 ± 0,00	–	–
5 <i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	–	–	–	–	–
6 <i>Daucus crinitus</i>	–	–	–	–	–
7 <i>Dittrichia graveolens</i>	6,67 ± 2,89	–	5,00 ± 0,00	–	–
8 <i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	5,00 ± 0,00	–	–	–	–
9 <i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	–	–	–	–	–
10 <i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	40,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	–	–	–
11 <i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	–	–	–	–	–
12 <i>Mentha piperita</i>	–	40,00 ± 0,00	–	–	–
13 <i>Mentha pulegium</i>	–	–	–	–	–
14 <i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	–	–	–	–	–
15 <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	0,63 ± 0,00	0,63 ± 0,00	1,04 ± 0,36	5,00 ± 0,00	40,00 ± 0,00
16 <i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	13,33 ± 5,77	13,33 ± 5,77	40,00 ± 0,00	–	–
17 <i>Ruta angustifolia</i>	–	–	8,33 ± 2,89	–	–
18 <i>Thymbra capitata</i>	1,25 ± 0,00	1,25 ± 0,00	0,31 ± 0,00	2,50 ± 0,00	–
19 <i>Thymus pallescens</i>	2,50 ± 0,00	2,50 ± 0,00	0,73 ± 0,48	5,00 ± 0,00	–
20 <i>Visnaga daucoides</i>	5,00 ± 0,00	–	1,25 ± 0,00	40,00 ± 0,00	–
Standard	2,50 ± 0,00	5,00 ± 0,00	1,25 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00

Les résultats sont moyenne ± écart-type des CMI de trois répétitions en milligrammes par millilitre (mg/ml) pour les huiles essentielles et en microgrammes par millilitre (µg/ml) pour le standard. Standard : gentamicine pour les souches bactériennes, amphotéricine B pour la souche fongique. – : CMI non déterminée.



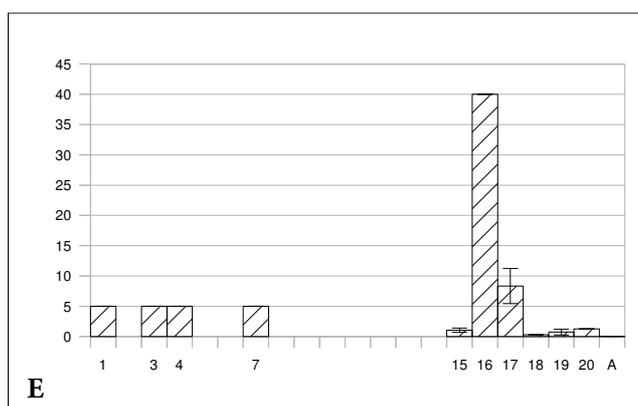


Figure 4. CMI de la croissance en milligrammes par millilitre (mg/ml) pour (A) *S. aureus*, (B) *E. faecalis*, (C) *K. pneumoniae*, (D) *P. aeruginosa* et (E) *C. albicans*. Les huiles essentielles portent la numérotation du Tableau 8. G : gentamicine. A : amphotéricine B.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les CMI varient de 0,63 mg/ml à 40 mg/ml. L'huile essentielle d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* est la plus active par rapport aux autres huiles étudiées avec une CMI de 0,63 mg/ml sur *S. aureus* et *E. faecalis*, alors que *P. aeruginosa* a été inhibée à 40 mg/ml. Il est également noté l'activité des huiles de *T. capitata* et de *T. pallescens* sur *C. albicans* et *K. pneumoniae* avec des CMI plus faibles que celles observées chez l'huile d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum*, à savoir, 0,31 mg/ml et 0,73 mg/ml sur *C. albicans* pour *T. capitata* et *T. pallescens* respectivement, et 2,50 mg/ml pour *T. capitata* sur *K. pneumoniae*. On peut signaler, de plus, l'effet remarquable des huiles essentielles d'*A. pusilla*, de *R. officinalis* subsp. *officinalis* et de *V. daucoïdes* sur la majorité des souches étudiées. À l'inverse, les huiles de *D. carota* subsp. *maximus*, de *D. crinitus*, de *F. vulgare* subsp. *vulgare*, de *L. stoechas* subsp. *stoechas*, de *M. pulegium* et de *M. suaveolens* subsp. *suaveolens* ne présentaient aucun effet inhibiteur dans la gamme de concentrations étudiée (0,08-40 mg/ml).

Selon l'efficacité des plantes vis-à-vis des microorganismes sélectionnés, on peut les classer par ordre décroissant comme suit : *O. vulgare* subsp. *glandulosum* > *T. capitata* > *T. pallescens* > *A. pusilla* > *V. daucoïdes* > *R. officinalis* subsp. *officinalis* > *A. herba-alba* > *D. graveolens* > *C. nepeta* subsp. *nepeta* > *L. dentata* var. *dentata* > *A. arborescens* > *F. vulgare* subsp. *piperitum* > *R. angustifolia* > *M. piperita*.

Plusieurs études ont montré que les composants majoritaires d'une huile essentielle se trouvent chez une même espèce issue de différentes localités avec une certaine variation du pourcentage. Le Tableau 9 donne la composition chimique en composants majoritaires des huiles essentielles étudiées. Les structures chimiques sont représentées dans l'Annexe 4.

Tableau 9. Huiles essentielles étudiées avec leurs composés majoritaires.

Huile essentielle de	Composés majoritaires	Références
<i>A. pusilla</i>	thymol, <i>gamma</i> -terpinène, <i>para</i> -cymène	Laouer et al., 2003 ; Abdelouahid et Bekhechi, 2004 ; El Ouariachi et al., 2011 ; Bnouham et al., 2012
<i>A. arborescens</i>	<i>bêta</i> -thuyone, chamazulène (qui donne la couleur bleue à l'huile), camphre	Sacco et al., 1983 ; Militello et al., 2011 et 2012
<i>A. herba-alba</i>	eucalyptol, <i>alpha</i> -thuyone, <i>bêta</i> -thuyone, chrysanthénone, camphre, bornéol	Feuerstein et al., 1986 ; Haouari et Ferchichi, 2009 ; Akrouit et al., 2010 ; Dahmani-Hamzaoui et Baaliouamer, 2010 ; Mighri et al., 2010ab, Belhattab et al., 2012
<i>C. nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	menthone, pulégone, pipéritone	Ristorcelli et al., 1996 ; Marongiu et al., 2010
<i>D. carota</i> subsp. <i>maximus</i>	méthyleugénol, <i>bêta</i> -asarone	Saad et al., 1995
<i>D. crinitus</i>	isobutyrate d'isochavicol	Dib et al., 2010 ; Lanfranchi et al., 2010 ; Bendiabdellah et al., 2012
<i>D. graveolens</i>	bornéol, acétate de bornyle	Mirza et Ahmadi, 2000 ; Petropoulou et al., 2004 ; Ghosn et al., 2006 ; Aghel et al., 2011
<i>F. vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	estragol, limonène, fenchone	Özcan et Chalchat, 2006 ; Özcan et al., 2007 ; Figueredo et al., 2011
<i>F. vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	estragol, <i>trans</i> -anéthol, fenchone	Lazouni et al., 2007 ; Lopes et al., 2009 ; Tschiggerl et Bucar, 2010
<i>L. dentata</i> var. <i>dentata</i>	eucalyptol, <i>bêta</i> -pinène, <i>trans</i> -pinocarvéol	Gámez et al., 1990 ; Bousmaha et al., 2005 et 2006 ; Imelouane et al., 2009 et 2010 ; Touati et al., 2011
<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	eucalyptol, fenchone, camphre	Chedli, 1994 ; Skoula et al., 1996 ; Dadalioğlu et Evrendilek, 2004 ; Angioni et al., 2006 ; Kirmizibekmez et al., 2009 ; Tzakou et al., 2009
<i>M. piperita</i>	menthol, menthone	İşcan et al., 2002 ; Farshbaf Moghaddam et al., 2004 ; Behnam et al., 2006 ; Freire et al., 2012
<i>M. pulegium</i>	pulégone, menthone, pipéritone, pipériténone	Zwaving et Smith, 1971 ; Chalchat et al., 2000 ; Lorenzo et al., 2002 ; Aghel et al., 2004 ; Kokkini et al., 2004 ; Agnihotri et al., 2005 ; Soares et al., 2005 et 2012 ; Stoyanova et al., 2005 ; Beghidja et al., 2007 ; Mahboubi et Haghi, 2008 ; Hajlaoui et al., 2009 ; Shahmohamadi et al., 2011 ; Teixeira et al., 2012
<i>M. suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	pulégone, oxyde de pipériténone, oxyde de pipéritone	Oumzil et al., 2002 ; Koliopoulos et al., 2010 ; Sutour et al., 2010
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	thymol, carvacrol, <i>para</i> -cymène, <i>gamma</i> -terpinène	Ruberto et al., 2002 ; Belhattab et al., 2005 ; Bekhechi et al., 2008 ; Bendahou et al., 2008 ; Khalfi et al., 2008 ; Berrehal et al., 2010 ; Mechergui et al., 2010
<i>R. officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	eucalyptol, camphre, <i>alpha</i> -pinène	Soliman et al., 1994 ; Touafek et al., 2004 ; Kabouche et al., 2005 ; Miresmailli et al., 2006 ; Wang et al., 2008 ; Bernardes et al., 2010 ; de Melo et al., 2011 ; Maggi et al., 2011

Tableau 9. Huiles essentielles étudiées avec leurs composés majoritaires (suite).

Huile essentielle de	Composés majoritaires	Références
<i>R. angustifolia</i>	pipéronylacétone, 2-undécane, 2-nonane	Joulain <i>et al.</i> , 1991 ; Dob <i>et al.</i> , 2008
<i>T. capitata</i>	carvacrol, <i>para</i> -cymène, <i>gamma</i> -terpinène, thymol	Ruberto <i>et al.</i> , 1992 ; Cosentino <i>et al.</i> , 1999 ; Hedhili <i>et al.</i> , 2002 ; Salgueiro <i>et al.</i> , 2004 ; Miguel <i>et al.</i> , 2005 ; Miceli <i>et al.</i> , 2006 ; Bounatirou <i>et al.</i> , 2007 ; Tommasi <i>et al.</i> , 2007 ; Bentes <i>et al.</i> , 2009 ; Akrouit <i>et al.</i> , 2010 ; Guedri Mkaddem <i>et al.</i> , 2010 ; Machado <i>et al.</i> , 2010 ; Palmeira-de-Oliveira <i>et al.</i> , 2012
<i>T. pallescens</i>	thymol, <i>gamma</i> -terpinène, <i>para</i> -cymène, carvacrol	Ghannadi <i>et al.</i> , 2004 ; Kabouche <i>et al.</i> , 2005 ; Dob <i>et al.</i> , 2006 ; Bekhechi <i>et al.</i> , 2007 ; Hazzit et Baaliouamer 2009ab
<i>V. daucoïdes</i>	linalol, 2-méthylbutyrate d'isoamyle	Kallel Sellami <i>et al.</i> , 2011 ; Khadhri <i>et al.</i> , 2011 ; Khalfallah <i>et al.</i> , 2011

Par comparaison des résultats d'activité dans notre étude avec les résultats d'analyse rapportés dans la littérature, on constate que les huiles essentielles les plus actives sont riches en monoterpènes oxygénés tels que le thymol, le carvacrol, l'eucalyptol (ou 1,8-cinéol), le camphre et la fenchone, et en phénylpropanoïdes tels que l'estragol et l'anéthol.

Des travaux antérieurs rapportent l'inhibition de la croissance de *S. aureus* par les composés majoritaires de l'huile d'*A. herba-alba* (*alpha*-thuyone et *bêta*-thuyone) à une CMI de 0,156 mg/ml (Mighri *et al.*, 2010a), par l'huile de *D. crinitus* à 2,5 mg/ml (Lanfranchi *et al.*, 2010), de *L. dentata* var. *dentata* à 0,041 mg/ml (Imelouane *et al.*, 2009), de *L. stoechas* subsp. *stoechas* à 0,0312 mg/ml (Kirmizibekmez *et al.*, 2009), de *M. pulegium* à 0,5 µl/ml (Mahboubi et Haghi, 2008), de *M. suaveolens* subsp. *suaveolens* riche en pulégone à 0,69-1,38 ppm (Oumzil *et al.*, 2002), d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* à 0,07925 mg/ml (Bendahou *et al.*, 2008), de *R. officinalis* subsp. *officinalis* à > 0,128 mg/ml et de *T. pallescens* à 0,032 mg/ml (Kabouche *et al.*, 2005), et de *V. daucoïdes* à 0,032 mg/ml pour une huile à 128 µg/ml (Khalfallah *et al.*, 2011).

On note également l'inhibition d'*E. faecalis* par *alpha*-thuyone et *bêta*-thuyone de l'huile d'*A. herba-alba* à 0,039 mg/ml (Mighri *et al.*, 2010a) et par l'huile de *D. crinitus* à 5 mg/ml (Lanfranchi *et al.*, 2010). La croissance de l'espèce *C. albicans* a été inhibée par les huiles de *D. graveolens* à 30,675 mg/ml (Aghel *et al.*, 2011), de *M. pulegium* à 1 µl/ml (Mahboubi et Haghi, 2008), d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* à 0,036-0,057 mg/ml (Bendahou *et al.*, 2008), et de *T. capitata* à 0,125 mg/ml (Usai *et al.*, 2010). Les deux espèces *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* sont inhibées par les huiles de *L. dentata* var. *dentata* à 0,04187 mg/ml et 10 mg/ml (Imelouane *et al.*, 2009), de *M. suaveolens* subsp. *suaveolens* à 0,69-1,38 ppm et 1,38 ppm (Oumzil *et al.*, 2002), d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* à 0,059 mg/ml et 0,110-0,120 mg/ml (Bendahou *et al.*, 2008), de *R. officinalis* subsp. *officinalis* à 0,625 µg/ml et 2,5 µg/ml et de *T. pallescens* à 0,016 µg/ml et 0,064 mg/ml (Kabouche *et al.*, 2005), et de *V. daucoïdes* à 0,016 mg/ml et 0,016 mg/ml pour une

huile à 128 µg/ml, respectivement (Khalfallah et al., 2011).

Donc, on remarque bien que les résultats obtenus dans cette étude sont très proches de ceux de la littérature.

4.4. CMI de la formation de biofilms

Les résultats obtenus pour les CMI de la formation de biofilms sont enregistrés dans le Tableau 10 et illustrés par la Figure 5.

Tableau 10. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la formation de biofilms.

N°	Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
1	<i>Ammoides pusilla</i>	0,21 ± 0,09	1,04 ± 0,36	5,00 ± 0,00	1,67 ± 0,72	–
2	<i>Artemisia arborescens</i>	1,04 ± 0,36	–	–	–	–
3	<i>Artemisia herba-alba</i>	4,17 ± 1,44	20,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	–	–
4	<i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	1,04 ± 0,36	–	5,00 ± 0,00	–	–
5	<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	–	–	–	–	–
6	<i>Daucus crinitus</i>	–	–	–	–	–
7	<i>Dittrichia graveolens</i>	5,00 ± 0,00	–	5,00 ± 0,00	–	–
8	<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	5,00 ± 0,00	–	–	–	–
9	<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	–	–	–	–	–
10	<i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	16,67 ± 5,77	8,33 ± 2,89	–	–	–
11	<i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	–	–	–	–	–
12	<i>Mentha piperita</i>	–	20,00 ± 0,00	–	–	–
13	<i>Mentha pulegium</i>	–	–	–	–	–
14	<i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	–	–	–	–	–
15	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	0,16 ± 0,00	0,21 ± 0,09	1,04 ± 0,36	1,04 ± 0,36	20,00 ± 0,00
16	<i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	40,00 ± 0,00	–	–
17	<i>Ruta angustifolia</i>	–	–	8,33 ± 2,89	–	–
18	<i>Thymbra capitata</i>	0,31 ± 0,00	0,52 ± 0,18	0,31 ± 0,00	0,63 ± 0,00	–
19	<i>Thymus pallescens</i>	0,42 ± 0,18	0,63 ± 0,00	0,52 ± 0,18	1,25 ± 0,00	–
20	<i>Visnaga daucoides</i>	1,25 ± 0,00	–	1,25 ± 0,00	20,00 ± 0,00	–
	Standard	2,50 ± 0,00	5,00 ± 0,00	1,25 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00

Les résultats sont moyenne ± écart-type des CMI de trois répétitions en milligrammes par millilitre (mg/ml) pour les huiles essentielles et en microgrammes par millilitre (µg/ml) pour le standard. Standard : gentamicine pour les souches bactériennes, amphotéricine B pour la souche fongique. – : CMI non déterminée.

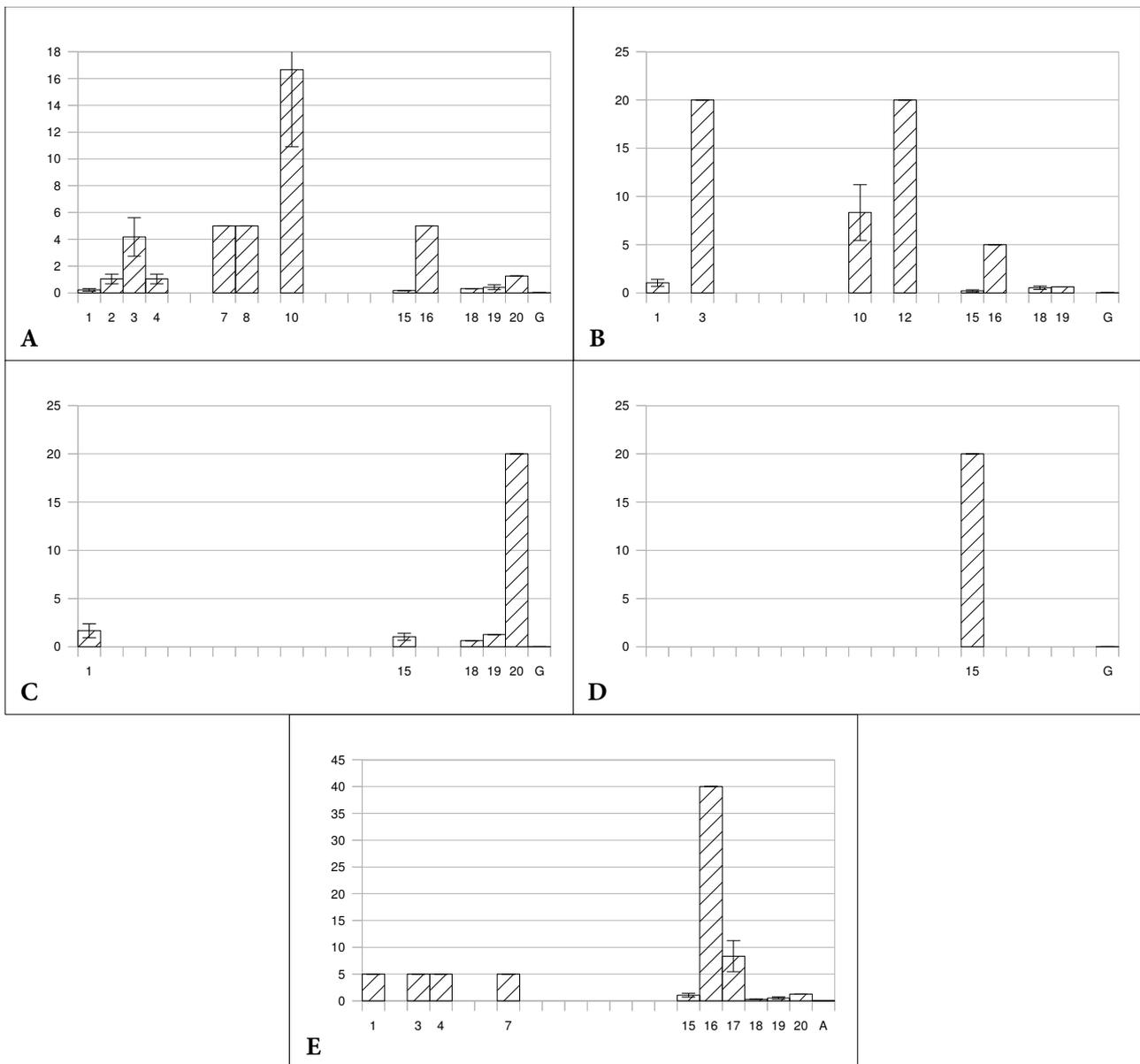


Figure 5. CMI de la formation de biofilms en milligrammes par millilitre (mg/ml) pour (A) *S. aureus*, (B) *E. faecalis*, (C) *K. pneumoniae*, (D) *P. aeruginosa* et (E) *C. albicans*. Les huiles essentielles portent la numérotation du Tableau 10. G : gentamicine. A : amphotéricine B.

D'après le Tableau 10, on remarque que les CMI de la formation de biofilms étaient plus faibles par rapport à celles de la croissance, sauf pour l'espèce fongique *C. albicans*, où les CMI étaient les mêmes. Le faible score a été enregistré pour l'huile essentielle d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum* avec une CMI de 0,16 mg/ml contre *S. aureus*, de 0,21 mg/ml contre *E. faecalis*, et de 20 mg/ml contre *P. aeruginosa*. Alors que l'huile de *T. capitata* a inhibé la formation des biofilms de *C. albicans* et de *K. pneumoniae* à 0,31 mg/ml et 0,63 mg/ml respectivement. On constate que les cellules fongiques lorsqu'elles peuvent pousser, elles forment le biofilm, alors que les bactéries, même si elles arrivent à pousser à certaines concentrations, elles ne peuvent pas former le biofilm. Les huiles essentielles ayant une forte activité sur les cellules planctoniques avaient un écart

remarquable entre les CMI de la croissance et celles de la formation de biofilms.

La littérature n'apporte aucune information sur l'utilisation de ces huiles essentielles pour l'inhibition de la formation de biofilms. Il y a une seule étude qui rapporte l'effet de l'huile essentielle de *T. capitata* sur la réduction du métabolisme du biofilm déjà formé de *C. albicans* à 62,71 % et sur la réduction de sa biomasse à 71,96 % à une concentration de 0,64 µl/ml (Palmeira-de-Oliveira et al., 2012). Une autre équipe a étudié l'effet de différents extraits aux solvants sur la formation du biofilm de *S. aureus* résistant à la méthicilline (Quave et al., 2008), où les extraits à l'éthanol des feuilles et des tiges de *D. carota* L. subsp. *carota*, de *F. vulgare* subsp. *piperitum* et de *F. vulgare* subsp. *vulgare* ne présentaient aucune inhibition de la formation du biofilm dans la gamme de concentrations étudiée (4-128 µg/ml). L'extrait à l'éthanol des feuilles, des tiges, des fleurs et des racines de *M. pulegium* n'avait aussi aucun effet inhibiteur. Alors que celui des feuilles, des tiges et des fleurs de *R. officinalis* subsp. *officinalis* avait une CMI₅₀ de croissance de 512 µg/ml (dans la gamme de 8-512 µg/ml) et une CI₅₀ de formation de biofilm de 16 µg/ml.

D'autres auteurs ont étudié l'effet des huiles essentielles sur des biofilms déjà formés. Nostro et al. (2007) ont rapporté l'effet de l'huile essentielle d'*O. vulgare* subsp. *vulgare* et ses composants majoritaires, le carvacrol et le thymol, sur l'éradication des biofilms de *S. aureus* et *S. epidermidis* avec une CIB (concentration inhibitrice de biofilm) de 0,031-0,500 % (v/v) qui était plus élevée que la CMI de la croissance planctonique (0,015-0,125 % (v/v)), tandis que la CEB (concentration d'éradication de biofilm) était plus élevée que la CIB (0,125-1 % (v/v)).

Une large réduction du biofilm d'*E. faecalis* a été observée à 0,5 % (v/v) de l'huile essentielle de *Myrcia ovata* Cambess. pendant 10 min (Cândido et al., 2010), alors que les polyphénols du triphala (qui signifie trois fruits), une formule se composant principalement de trois plantes tropicales de fruitiers, *amalaki* (*Phyllanthus emblica* L.), *haritaki* (*Terminalia chebula* Retz.) et *bibhitaki* (*Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb.), et les polyphénols du thé vert (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) n'ont montré aucun effet sur les biofilms formés sur la surface du canal radiculaire, à l'inverse de l'hyPOCHlorite de sodium (Prabhakar et al., 2010).

La diminution du développement du biofilm de *C. albicans* a été observée par microscopie électronique à balayage après traitement par l'huile essentielle de *Coriandrum sativum* L. (Furletti et al., 2011). On note également l'inhibition de la formation du biofilm à 0,016 % (v/v) de l'huile de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel avec une réduction de 70 %. L'adhésion au polystyrène a été réduite à 0,031-0,250 % (v/v), et aux cellules épithéliales buccales et HeLa à 0,016-0,062 % (v/v) (Sudjana et al., 2012).

Derakhshan et al. (2010) ont étudié l'effet de l'huile essentielle des semences de *Cuminum cyminum* L. sur la formation du biofilm de *K. pneumoniae* à des concentrations plus faibles que la CMI de la croissance de 1/4 à 1/2 × CMI (de 0,2-0,87 µg/ml à 0,4-1,75 µg/ml) avec une réduction de 50 % à une longueur d'onde de 595 nm.

La thymoquinone qui est un composé majoritaire dans l'huile essentielle de *Nigella sativa* L. a montré un effet préventif de la formation des biofilms d'*E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* et *P. aeruginosa* par la même méthode du cristal violet à une CIB₅₀ de 85 µg/ml, 22 µg/ml et 60 µg/ml, et à une CIB₉₀ de 349 µg/ml, 75 µg/ml et 109 µg/ml pour *E. faecalis*, *S. aureus* et *S. epidermidis* respectivement (Chaïeb et al., 2011). Pour l'espèce *P. aeruginosa*, aucune inhibition n'a été observée dans la gamme de 0-512 µg/ml. Le thymol et le carvacrol ont montré un effet inhibiteur de l'adhésion et de la formation de biofilm pour *P. aeruginosa* par la méthode du cristal violet à 1/16 de la CMI de la croissance avec une réduction de 6,2-63 % (El Abed et al., 2011b). D'autre part, l'eugénol, la carvone, la *bêta*-ionone et le carvéol avaient cet effet sur l'adhésion à 0,062 × CMI avec une réduction de 18-53 % (El Abed et al., 2011a). Le carvacrol montre également un effet inhibiteur de la formation de biofilm pour *S. aureus* et *S. epidermidis* avec 1/2 de la CMI (0,015-0,062 % (v/v)) et sur le biofilm déjà formé avec une CIB/CEB de 0,062/0,125 % (v/v) et de 0,125/0,250 % (v/v) pour *S. aureus* et *S. epidermidis* respectivement (Nostro et al., 2012).

Tous ces résultats montrent la faible concentration pour inhiber la formation d'un biofilm par rapport à celle de la croissance planctonique, et aussi, la concentration élevée pour l'inhibition du biofilm formé et pour son éradication.

5

Conclusion

5. Conclusion

Dans le but de la recherche de substances naturelles douées d'activité antimicrobienne, et plus précisément, ayant une action de prévention contre l'installation d'agents pathogènes responsables de plusieurs maladies au niveau de la cavité buccale, les huiles essentielles de vingt espèces végétales (*Ammoides pusilla*, *Artemisia arborescens*, *Artemisia herba-alba*, *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta*, *Daucus carota* subsp. *maximus*, *Daucus crinitus*, *Dittrichia graveolens*, *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum*, *Foeniculum vulgare* subsp. *vulgare*, *Lavandula dentata* var. *dentata*, *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Mentha suaveolens* subsp. *suaveolens*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum*, *Rosmarinus officinalis* subsp. *officinalis*, *Ruta angustifolia*, *Thymbra capitata*, *Thymus pallescens* et *Visnaga daucoïdes*) ont été testées sur quelques souches microbiennes de référence (*Candida albicans* ATCC 10231, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) qui représentent un ensemble de microorganismes connus par leur pathogénicité au niveau de la cavité buccale même s'ils sont considérés parmi les genres microbiens transitoires du fait de leur installation après un manque d'hygiène.

C'est pour la première fois que ce travail rapporte l'effet des huiles essentielles de ces plantes sur la formation de biofilms. La majorité des plantes étudiées sont riches en huiles essentielles et constituent une bonne source pour ces substances avec des rendements variant de 0,69 % à 3,08 % (v/p) où *R. angustifolia* est la plante ayant le plus grand rendement. Plusieurs huiles essentielles, dans ce travail, montrent une activité antimicrobienne et surtout inhibitrice de la formation de biofilms. La souche fongique et les souches bactériennes à Gram positif présentent une grande sensibilité vis-à-vis de la majorité des huiles essentielles, alors que les bactéries à Gram négatif montrent plus de résistance. Les CMI de la croissance planctonique indiquent la plus remarquable activité antimicrobienne pour les huiles essentielles d'*O. vulgare* subsp. *glandulosum*, de *T. capitata*, de *T. pallescens*, d'*A. pusilla*, de *V. daucoïdes* et de *R. officinalis* subsp. *officinalis*. Ces huiles essentielles étaient capables d'inhiber la formation des biofilms à des concentrations qui arrivent jusqu'à 1/8 de la CMI de croissance pour les souches bactériennes à Gram-positif surtout *S. aureus*. Ces résultats rendent ces huiles essentielles une bonne source de molécules bioactives qui peuvent être utilisées pour garder l'hygiène ou pour la prévention de maladies buccodentaires qui viennent après un manque d'hygiène dans la cavité buccale telles que les parodontites agressives et les endodontites causées par certains pathogènes inhabituels tels que *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*.

L'utilisation de plantes ayant des huiles essentielles riches en thymol, en carvacrol, et en eucalyptol présente une bonne alternative pour garder l'hygiène buccale à la place de certains produits synthétiques tels que la chlorhexidine et l'hypochlorite de sodium. Donc, il sera très intéressant de produire de bains de bouches ou de dentifrices à base de produits naturels.

Références

Références

- Abdelouahid, D. E., et Bekhechi, C. (2004). Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nûnkha). *Biologie & Santé*, 4 (2): 10.
- Aghel, N., Yamini, Y., Hadjiakhoondi, A., et Pourmortazavi, S. M. (2004). Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta*, 62 (2): 407-411.
- Aghel, N., Mahmoudabadi, A. Z., et Darvishi, L. (2011). Volatile constituents and anti-*Candida* activity of the aerial parts essential oil of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter grown in Iran. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (6): 772-775.
- Agnihotri, V. K., Agarwal, S. G., Dhar, P. L., Thappa, R. K., Baleshwar, Kapahi, B. K., Saxena, R. K., et Qazi, G. N. (2005). Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (6): 607-610.
- Akrout, A., El Jani, H., Amouri, S., et Neffati, M. (2010). Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoff. et Link. growing wild in the southern of Tunisia. *Recent Research in Science and Technology*, 2 (1): 29-39.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., et Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (12): 4364-4370.
- Barsotti, O. (2006). Tableaux récapitulatifs des principaux genres bactériens de la flore buccale. In Chardin, H., Barsotti, O., et Bonnaure-Mallet, M. (éds.), *Microbiologie en odonto-stomatologie*, 52-60. Paris, France: Maloine.
- Başer, K. H. C., et Buchbauer, G. (2010). Introduction. In Başer, K. H. C., et Buchbauer, G. (éds.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*, 1. Boca Raton, Floride, États-Unis: CRC Press.
- Beckloff, N., Laube, D., Castro, T., Furgang, D., Park, S., Perlin, D., Clements, D., Tang, H., Scott, R. W., Tew, G. N., et Diamond, G. (2007). Activity of an antimicrobial peptide mimetic against planktonic and biofilm cultures of oral pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51 (11): 4125-4132.
- Beghidja, N., Bouslimani, N., Benayache, F., Benayache, S. et Chalchat, J.-C. (2007). Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43 (4): 481-483.
- Behnam, S., Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., et Tehrani, A. S. (2006). Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71 (3 Pt B): 1321-1326.
- Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., Abdelouahid, D. E., Tomi, F., et Casanova, J. (2007). Composition

- and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 19 (6): 594-596.
- Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., et Abdelouahid, D. E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6 (3): 153-159.
- Belhatab, R., Larous, L., Figueiredo, A. C., Santos, P. A. G., Barroso, J. G., et Pedro, L. G. (2005). *Origanum glandulosum* Desf. grown wild in Algeria: essential oil composition and glycosidic bound volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (2): 209-212.
- Belhatab, R., Amor, L., Barroso, J. G., Pedro, L. G., et Figueiredo, A. C. (2012). Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, In Press: 9.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J.-M., Bernardini, A.-F., et Costa, J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106 (1): 132-139.
- Bendiabdellah, A., Dib, M. E. A., Meliani, N., Muselli, A., Nassim, D., Tabti, B., et Costa, J. (2012). Antibacterial activity of *Daucus crinitus* essential oils along the vegetative life of the plant. *Journal of Chemistry*, 2013: 7.
- Bentes, J., Miguel, M. G., Monteiro, I., Costa, M., Figueired, A. C., Barroso, J. G., et Pedro, L. G. (2009). Antioxidant activities of the essential oils and extracts of Portuguese *Thymbra capitata* and *Thymus mastichina*. *Italian Journal of Food Science*, 21 (2): 183-195.
- Bernardes, W. A., Lucarini, R., Tozatti, M. G., Flauzino, L. G., Souza, M. G., Turatti, I. C., Andrade e Silva, M. L., Martins, C. H., da Silva Filho, A. A., et Cunha, W. R. (2010). Antibacterial activity of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 65 (9-10): 588-593.
- Berrehal, D., Boudiar, T., Hichem, L., Khalfallah, A., Kabouche, A., Al-Freihat, A., Ghannadi, A., Sajjadi, E., Mehrabani, M., Safaei-Ghomi, J., et Kabouche Z. (2010). Comparative composition of four essential oils of oregano used in Algerian and Jordanian folk medicine. *Natural Product Communications*, 5 (6): 957-960.
- Birdi, T. J., Brijesh, S., et Daswani, P. G. (2006). *Approaches Towards the Preclinical Testing and Standardization of Medicinal Plants*. Worli, Bombay, Inde: The Foundation for Medical Research.
- Biswas, S., Koul, M., et Bhatnagar, A. K. (2011). Effect of salt, drought and metal stress on essential oil yield and quality in plants. *Natural Product Communications*, 6 (10): 1559-1564.
- Bnouham, M., Benalla, W., Asehraou, A., et Berrabah, M. (2012). Antibacterial activity of essential oil from *Ptychotis verticillata*. *Spatula DD*, 2 (1): 69-73.

- Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, L., Rejeb, M. N., Neffati, M., Costa, M. M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., et Pedro, L. G. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, 105 (1): 146-155.
- Bousmaha, L., Atik-Bekkara, F., Tomi, F., et Casanova, J. (2005). Advances in the chemical composition of *Lavandula dentata* L. essential oil from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (3): 292-295.
- Bousmaha, L., Boti, J. B., Atik-Bekkara, F., Castola, V., et Casanova, J. (2006). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal*, 21 (2): 368-372.
- Bowes, K. M., et Zheljaskov, V. D. (2004). Factors affecting yields and essential oil quality of *Ocimum sanctum* L. and *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129 (6): 789-794.
- Bunetel, L. (2006). Les micromycètes. In Chardin, H., Barsotti, O., et Bonnaure-Mallet, M. (éds.), *Microbiologie en odonto-stomatologie*, 101-112. Paris, France: Maloine.
- Burke, B. E., Baillie, J.-E., et Olson, R. D. (2004). Essential oil of Australian lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) in the treatment of molluscum contagiosum in children. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58 (4): 245-247.
- Cândido, C. S., Portella, C. S. A., Laranjeira, B. J., da Silva, S. S., Arriaga, A. M. C., Santiago, G. M. P., Gomes, G. A., Almeida, P. C., et Carvalho, C. B. M. (2010). Effects of *Myrcia ovata* Cambess. essential oil on planktonic growth of gastrointestinal microorganisms and biofilm formation of *Enterococcus faecalis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41 (3): 621-627.
- Carson, C. F., Cookson, B. D., Farrelly, H. D., et Riley, T. V. (1995). Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 35 (3): 421-424.
- Carson, C. F., Ashton, L., Dry, L., Smith, D. W., et Riley, T. V. (2001). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil gel (6%) for the treatment of recurrent herpes labialis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (3): 450-451.
- Chaïeb, K., Kouidhi, B., Jrah, H., Mahdouani, K., et Bakhrouf, A. (2011). Antibacterial activity of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11: 29.
- Chalchat, J.-C., Gorunovic, M. S., Maksimovic, Z. A., et Petrovic, S. D. (2000). Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*, 12 (5): 598-600.
- Chedli, A. (1994). *Geographical Variation of Essential Oil Yield and Composition of Lavandula stoechas subsp. stoechas Growing Wild in Crete, Greece*. Chania, Grèce: Centre International de Hautes Études Agronomiques Méditerranéennes.

- Clevenger, J. P. (1928). Apparatus for volatile oil determination, description of new type. *American Perfumer and Essential Oil Review*, 23: 467-503.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2006a). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard*, 9ème éd., M2-A9, 26 (1). Wayne, Pennsylvanie, États-Unis: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2006b). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*, 7ème éd., M7-A7, 26 (2). Wayne, Pennsylvanie, États-Unis: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2007). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement*, M100-S17, 27 (1). Wayne, Pennsylvanie, États-Unis: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Colombo, A. P. V., Teles, R. P., Torres, M. C., Souto, R., Rosalém, W., Mendes, M. C. S., et Uzeda, M. (2002). Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 73 (4): 360-369.
- Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., et Palmas, F. (1999). *In-vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29 (2): 130-135.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (2): 564-582.
- d'Acampora Zellner, B., Dugo, P., Dugo, G., et Mondello, L. (2010). Analysis of essential oils. In Başer, K. H. C., et Buchbauer, G. (éds.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*, 151-177. Boca Raton, Floride, États-Unis: CRC Press.
- Dadalioglu, I., et Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26): 8255-8260.
- Dahmani-Hamzaoui, N., et Baaliouamer, A. (2010). Chemical composition of Algerian *Artemisia herba-alba* essential oils isolated by microwave and hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Research*, 22 (6): 514-517.
- da Silva R. R., da Câmara C. A. G., Almeida, A. V., et Ramos, C. S. (2012). Biotic and abiotic stress-induced phenylpropanoids in leaves of the mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23 (2): 206-211.
- de Melo, G. A. N., Grespan, R., Fonseca, J. P., Farinha, T. O., Silva, E. L., Romero, A. L., Bersani-Amado, C. A., et Cuman, R. K. N. (2011). *Rosmarinus officinalis* L. essential oil inhibits *in vivo* and *in vitro* leukocyte migration. *Journal of Medicinal Food*, 14 (9): 944-946.
- Derakhshan, S., Sattari, M., et Bigdeli, M. (2010). Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed

- essential oil on biofilm formation and plasmid integrity of *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (21): 57-61.
- Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S., et Cabezudo, M. D. (2002). Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (16): 4520-4524.
- Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S., González Viñas, M. A., et Cabezudo, M. D. (2003). Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (5): 1265-1269.
- Díaz-Maroto, M. C., Sánchez Palomo, E., Castro, L., González Viñas, M. A., et Pérez-Coello, M. S. (2004). Changes produced in the aroma compounds and structural integrity of basil (*Ocimum basilicum* L) during drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84 (15): 2070-2076.
- Dib, M. E. A., Djabou, N., Desjobert, J.-M., Allali, H., Tabti, B., Muselli, A., et Costa, J. (2010). Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as alternative technique to Hydrodistillation. *Chemistry Central Journal*, 4: 16.
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., et Chelghoum, C. (2006). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus fontanesii*. *Pharmaceutical Biology*, 44 (8): 607-612.
- Dob, T., Dahmane, D., Gauriat-Desrudy, B., et Daligault, V. (2008). Volatile constituents of the essential oil of *Ruta chalepensis* L. subsp. *angustifolia* (Pers.) P. Cout. *Journal of Essential Oil Research*, 20 (4): 306-309.
- dos Santos, F. J. B., Lopes, J. A. D., Cito, A. M. G. L., de Oliveira, E. H., de Lima, S. G., et Reis, F. A. M. (2004). Composition and biological activity of essential oils from *Lippia origanoides* H.B.K. *Journal of Essential Oil Research*, 16 (5): 504-506.
- Dumitrescu, A. L., et Ohara, M. (2010). Periodontal Microbiology. In Dumitrescu, A. L. (éd.), *Etiology and Pathogenesis of Periodontal Disease*, 39-76. Berlin et Heidelberg, Allemagne: Springer-Verlag.
- El Abed, S., Houari, A., Latrache, H., Remmal, A., et Ibensouda Koraïchi, S. (2011a). *In vitro* activity of four common essential oil components against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Research Journal of Microbiology*, 6 (4): 394-401.
- El Abed, S., Ibensouda Koraïchi, S., Latrache, H., Ghizlane, Z., Mouradi, H., et Remmal, A. (2011b). Carvacrol and thymol components inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* adherence and biofilm formation. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (20): 3229-3232.
- El Ouariachi, E. M., Tomi, P., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Desjobert, J.-M., Costa, J., et Paolini, J. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Ptychotis verticillata* from Morocco. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (2): 533-536.
- Enshaieh, S., Jooya, A., Siadat, A. H., et Irajli, F. (2007). The efficacy of 5% topical tea tree oil gel in

- mild to moderate acne vulgaris: A randomized, double-blind placebo-controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 73 (1): 22-25.
- Farshbaf Moghaddam, M., Omidbaigi, R., Pourbaig, V. M., et Ghaemi, A. (2004). Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3 (Suppl. 2): 68-69.
- Fennane, M., Ibn Tattou, M., Ouyahya, A., et El Oualidi, J. (2007). *Flore Pratique du Maroc*, Vol. 2. Rabat, Maroc: Institut Scientifique, Université Mohammed V.
- Feuerstein, I., Müller, D., Hubert, K., Danin, A., et Segal, R. (1986). The constitution of essential oils from *Artemisia herba alba* populations of Israel and Sinai. *Phytochemistry*, 25 (10): 2343-2347.
- Figueredo, G., Özcan, M. M., et Chalchat, J.-C. (2011). Effect of harvest years on chemical composition of essential oils of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. subsp. *piperitum*) fruits. *Journal of Food Biochemistry*; 35 (4): 1223-1230.
- Freire, M. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., Jardim, C. M., Barcelos, R. C., et Valente, V. M. M. (2012). Composition, antifungal activity and main fungitoxic components of the essential oil of *Mentha piperita* L. *Journal of Food Safety*, 32 (1): 29-36.
- Furletti, V. F., Teixeira, I. P., Obando-Pereda, G., Mardegan, R. C., Sartoratto, A., Figueira, G. M., Duarte, R. M. T., Rehder, V. L. G., Duarte, M. C. T., et Höfling, J. F. (2011). Action of *Coriandrum sativum* L. essential oil upon oral *Candida albicans* biofilm formation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011: 9.
- Gámez, M. J., Jiménez, J., Navarro, C., et Zarzuelo, A. (1990). Study of the essential oil of *Lavandula dentata* L. *Pharmazie*, 45 (1): 69-70.
- Ghannadi, A., Sajjadi, S. E., Kabouche, A., et Kabouche, Z. (2004). *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. – A potential source of thymol-rich essential oil in North Africa. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59 (3-4): 187-189.
- Ghosn, M. W., Chemali, C. B., Zaknoun, F. I., et Saliba, N. A. (2006). Chemical profile of the *Dittrichia graveolens* (Desf.) Greuter essential oil of Lebanese origin. *Journal of Essential Oil Research*, 18 (4): 443-444.
- Giraud-Robert, A. M. (2005). The role of aromatherapy in the treatment of viral hepatitis. *International Journal of Aromatherapy*, 15 (4): 183-192.
- Gören, A., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmuş, Z., et Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57 (9-10): 797-800.
- Gracieux, P., Robert, J.-C., et Bonnaure-Mallet, M. (2006). Les biofilms buccaux. In Chardin, H., Barsotti, O., et Bonnaure-Mallet, M. (éds.), *Microbiologie en odonto-stomatologie*, 141-160. Paris, France: Maloine.

- Guedri Mkaddem, M., Romdhane, M., Ibrahim, H., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., et Bouajila, J. (2010). Essential oil of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. from Matmata, Tunisia: Gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Medicinal Food*, 13 (6): 1500-1504.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., et Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (12): 2227-2238.
- Hamilton-Miller, J. M. T. (2001). Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Medical Microbiology*, 50 (4): 299-302.
- Hammer, K. A., Dry, L., Johnson, M., Michalak, E. M., Carson, C. F., et Riley, T. V. (2003). Susceptibility of oral bacteria to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil *in vitro*. *Oral Microbiology and Immunology*, 18 (6): 389-392.
- Haouari, M., et Ferchichi, A. (2009). Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from southern Tunisia. *Molecules*, 14 (4): 1585-1594.
- Harris, B. (2010). Phytotherapeutic uses of essential oils. In Başer, K. H. C., et Buchbauer, G. (éds.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*, 317-323. Boca Raton, Floride, États-Unis: CRC Press.
- Hassiotis, C. N., Lazari, D. M., et Vlachonassios, K. E. (2010). The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula angustifolia* Mill. *Fresenius Environmental Bulletin*, 19 (11): 1491-1498.
- Hayes, A. J., et Markovic, B. (2002). Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 40 (4): 535-543.
- Hazzit, M., et Baaliouamer, A. (2009a). Variation of essential oil yield and composition of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 21 (2): 162-165.
- Hazzit, M., et Baaliouamer, A. (2009b). Composition of the essential oils of the leaves and flowers of *Thymus pallescens* de Noé and *Origanum floribundum* Munby from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 21 (3): 267-270.
- Hedhili, L., Romdhane, M., Abderrabba, A., Planche, H., et Cherif, I. (2002). Variability in essential oil composition of Tunisian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link. *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (1): 26-28.
- Imai, H., Osawa, K., Yasuda, H., Hamashima, H., Arai, T., et Sasatsu, M. (2001). Inhibition by the essential oils of peppermint and spearmint of the growth of pathogenic bacteria. *Microbios*, 106 (Suppl. 1): 31-39.
- Imelouane, B., Elbachiri, A., Ankit, M., Benzeid, H., et Khedid, K. (2009). Physicochemical

- compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11 (2): 113-118.
- Imelouane, B., Elbachiri, A., Wathelet, J.-P., Dubois, J. et Amhamdi, H. (2010). Chemical composition, cytotoxic and antioxidant activity of the essential oil of *Lavandula dentata*. *World Journal of Chemistry*, 5 (2): 103-110.
- İşcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., et Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (14): 3943-3946.
- Joulain, D., Laurent, R., Fourniol, J. P., et Yaacob, K. B. (1991). Novel moskachan related compounds in the essential oil of *Ruta angustifolia* Pers. from Malaysia. *Journal of Essential Oil Research*, 3 (5): 355-357.
- Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Aït-Kaki, Z., et Benlabed, K. (2005). Comparative antibacterial activity of five *Lamiaceae* essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15 (3): 129-133.
- Kallel Sellami, H., Flamini, G., Cioni, P. L., et Smiti, S. (2011). Composition of the essential oils in various organs at different developmental stages of *Ammi visnaga* (L.) Lam. from Tunisia. *Chemistry & Biodiversity*, 8 (11): 1990-2004.
- Khadhri, A., El Mokni, R., Mguis, K., Ouerfelli, I., et Araújo, M. E. M. (2011). Variability of two essential oils of *Ammi visnaga* (L.) Lam. a traditional Tunisian medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (20): 5079-5082.
- Khalfallah, A., Labed, A., Semra, Z., Aït-Kaki, B., Kabouche, A., Touzani, R., et Kabouche, Z. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Ammi visnaga* L. (*Apiaceae*) from Constantine, Algeria. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1 (3): 302-305.
- Khalfi, O., Sahraoui, N., Bentahar, F., et Boutekedjiret, C. (2008). Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (9): 1562-1566.
- Kirmizibekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Başer, K. H., et Demirci, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey. *Natural Product Communications*, 4 (7): 1001-1006.
- Knoll-Köhler, E., et Stiebel, J. (2002). Amine fluoride gel affects the viability and the generation of superoxide anions in human polymorphonuclear leukocytes: an in vitro study. *European Journal of Oral Sciences*, 110 (4): 296-301.
- Kokkini, S., Hanlidou, E., Karousou, R., et Lanaras, T. (2004). Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 16 (6): 588-593.
- Koliopoulos, G., Pitarokili, D., Kioulos, E., Michaelakis, A. et Tzakou, O. (2010). Chemical

- composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology Research*, 107 (2): 327-335.
- Labrecque, J., Bodet, C., Chandad, F., et Grenier, D. (2006). Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58 (2): 439-443.
- Lachenmeier, D. W. (2008). Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin and inside the oral cavity. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 3: 26.
- Lanfranchi, D.-A., Laouer, H., El Kolli, M., Prado, S., Maulay-Bailly, C., et Baldovini, N. (2010). Bioactive phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (4): 2174-2179.
- Laouer, H., Zerroug, M. M., Sahli, F., Chaker, A. N., Valentini, G., Ferretti, G., Grande, M., et Anaya, J. (2003). Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 15 (2): 135-138.
- Lazouni, H. A., Benmansour, A., Taleb-Bendiab, S. A., et Chabane Sari, D. (2007). Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill. *Sciences & Technologie C*, 25: 7-12.
- Le Floch, E., et Boulos, L. (2008). *Flore de Tunisie: Catalogue synonymique commenté*. Montpellier, France: Maison d'Édition à Montpellier.
- Lopes, V. R., Barata, A. M., Farias, R., Mendes, M. D., Lima, A. S., Pedro, L. G., Barroso, J. G., et Figueiredo, A. C. (2009). Morphological and essential oil variability from nine Portuguese fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) accessions. *Acta Horticulturae*, 860: IV International Symposium on Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants, Ljubljana, Slovénie.
- Lorenzo, D., Paz, D., Dellacassa, E., Davies, P., Vila, R., et Cañigueral, S. (2002). Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45 (4): 519-524.
- Machado, M., Dinis, A. M., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Custódio, J. B. A., et do Céu Sousa, M. (2010). Anti-*Giardia* activity of phenolic-rich essential oils: effects of *Thymbra capitata*, *Origanum virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris*, and *Lippia graveolens* on trophozoites growth, viability, adherence, and ultrastructure. *Parasitology Research*, 106 (5): 1205-1215.
- Maggi, M., Gende, L., Russo, K., Fritz, R., et Eguaras, M. (2011). Bioactivity of *Rosmarinus officinalis* essential oils against *Apis mellifera*, *Varroa destructor* and *Paenibacillus larvae* related to the drying treatment of the plant material. *Natural Product Research*, 25 (4): 397-406.
- Mahboubi, M., et Haghi, G. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119 (2): 325-327.
- Mahmoudabadi, A. Z., Dabbagh, M. A., et Fouladi, Z. (2006). *In vitro* anti-candida activity of

Zataria multiflora Boiss. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 4 (3): 351-353.

- Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Maxia, A., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., et Salgueiro, L. (2010). Chemical composition and biological assays of essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta* (Lamiaceae). *Natural Product Research*, 24 (18): 1734-1742.
- Marotti, M., Dellacecca, V., Piccaglia, R., et Giovanelli, E. (1993) Effect of harvesting stage on the yield and essential oil composition of peppermint (*Mentha × piperita* L.). *Acta Horticulturae* 344: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Tibériade, Israël.
- Masako, K., Hideyuki, I., Shigeyuki, O., et Zenro, I. (2005). A novel method to control the balance of skin microflora: Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. *Journal of Dermatological Science*, 38 (3): 197-205.
- McCullough, M. J., et Farah, C. S. (2008). The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol-containing mouthwashes. *Australian Dental Journal*, 53 (4): 302-305.
- Mechergui, K., Coelho, J. A., Serra, M. C., Lamine, S. B., Boukhchina, S., et Khouja, M. L. (2010). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (10): 1745-1749.
- Miceli, A., Negro, C., et Tommasi, L. (2006). Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34 (6): 528-535.
- Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrouf, A., Najjaa, H., et Neffati, M. (2010a). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13 (3): 380-386.
- Mighri, H., Akrouf, A., El Jani, H., Zaïdi, S., Tomi, F., Casanova, J. et Neffati, M. (2010b). Composition and intraspecific chemical variability of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in a Tunisian arid zone. *Chemistry & Biodiversity*, 7 (11): 2709-2717.
- Miguel, M. G., Falcato-Simões, M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. M. G., Pedro, L. G., et Carvalho, L. M. (2005). Evaluation of the antioxidant activity of *Thymbra capitata*, *Thymus mastichina* and *Thymus camphoratus* essential oils. *Journal of Food Lipids*, 12 (3): 181-197.
- Militello, M., Settanni, L., Aleo, A., Mamma, C., Moschetti, G., Giammanco, G. M., Amparo Blázquez, M. et Carrubba, A. (2011). Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil. *Current Microbiology*, 62 (4): 1274-1281.
- Militello, M., Carrubba, A., et Amparo Blázquez, A. (2012). *Artemisia arborescens* L.: essential oil composition and effects of plant growth stage in some genotypes from Sicily. *Journal of Essential Oil Research*, 24 (3): 229-235.
- Miresmailli, S., Bradbury, R., et Isman, M. B. (2006). Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis*

- L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Management Science*, 62 (4): 366-371.
- Mirza, M., et Ahmadi, L. (2000). Composition of the essential oil of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter. *Journal of Essential Oil Research*, 12 (4): 507-508.
- Nostro, A., Sudano Roccaro, A., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C., Cioni, P. L., Procopio, F., et Blanco, A. R. (2007). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, 56 (4): 519-523.
- Nostro, A., Cellini, L., Zimbalatti, V., Blanco, A. R., Marino, A., Pizzimenti, F., di Giulio, M. et Bisignano, G. (2012). Enhanced activity of carvacrol against biofilm of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in an acidic environment. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 120 (12): 967-973.
- Orafidiya, L. O., Agbani, E. O., Oyedele, A. O., Babalola, O. O., et Onayemi, O. (2002). Preliminary clinical tests on topical preparations of *Ocimum gratissimum* Linn. leaf essential oil for the treatment of acne vulgaris. *Clinical Drug Investigation*, 22 (5): 313-319.
- Oumzil, H., Ghoulemi, S., Rhajaoui, M., Ilidrissi, A., Fkih-Tétouani, S., Faïd, M., et Benjouad, A. (2002). Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Mentha suaveolens*. *Phytotherapy Research*, 16 (8): 727-731.
- Özcan, M. M., et Chalchat, J.-C. (2006). Effect of collection time on chemical composition of the essential oil of *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* growing wild in Turkey. *European Food Research & Technology*, 224 (2): 279-281.
- Özcan, M. M., Chalchat, J.-C., Arslan, D., Ateş, A., et Ünver, A. (2007). Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. *piperitum*) fruit oils obtained during different vegetation. *Journal of Medicinal Food*, 9 (4): 552-561.
- Ozenda, P. (1983). *Flore du Sahara*, 2ème éd. Paris, France: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Palmeira-de-Oliveira, A., Gaspar, C., Palmeira-de-Oliveira, R., Silva-Dias, A., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Pina-Vaz, C., Martinez-de-Oliveira, J., Queiroz, J. A., et Rodrigues, A. G. (2012). The anti-*Candida* activity of *Thymbra capitata* essential oil: Effect upon pre-formed biofilm. *Journal of Ethnopharmacology*, 140 (2): 379-383.
- Palombo, E. A. (2009). Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011: 15.
- Petropoulou, A., Tzakou, O., et Verykokidou, E. (2004). Volatile constituents of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter from Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 16 (5): 400-401.
- Prabhakar, J., Senthilkumar, M., Priya, M. S., Mahalakshmi, K., Sehgal, P. K., et Sukumaran, V. G.

- (2010). Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth substrate: An *in vitro* study. *Journal of Endodontics*, 36 (1): 83–86.
- Quave, C. L., Plano, L. R. W., Pantuso, T., et Bennett, B. C. (2008). Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118 (3): 418–428.
- Quézel, P., et Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Vol. 2. Paris, France: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Ramadan, W., Mourad, B., Ibrahim, S., et Sonbol, F. (1996). Oil of bitter orange: New topical antifungal agent. *International Journal of Dermatology*, 35 (6): 448–449.
- Raman, A., Weir, U., et Bloomfield, S. F. (1995). Antimicrobial effects of tea-tree oil and its major components on *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Letters in Applied Microbiology*, 21 (4): 242–245.
- Rams, T. E., Feik, D., Young, V., Hammond, B. F., et Slots, J. (1992). Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology*, 7 (4): 249–252.
- Ristorcelli, D., Tomi, F., et Casanova, J. (1996). Essential oils of *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta* and subsp. *glandulosa* from Corsica (France). *Journal of Essential Oil Research*, 8 (4): 363–366.
- Rodrigues, F., Lehmann, M., Souza do Amaral, V., Reguly, M. L., et Rodrigues de Andrade, H. H. (2007). Genotoxicity of three mouthwash products, Cepacol®, Periogard®, and Plax®, in the *Drosophila* wing-spot test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48 (8): 644–649.
- Rosco Diagnostica (2007). *Susceptibility Testing of Yeasts: Agar Diffusion Method with Neo-Sensitabs*. Taastrup, Denmark: Rosco Diagnostica A/S.
- Ruberto, G., Biondi, D., et Piattelli, M. (1992). The essential oil of Sicilian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns, et Link. *Journal of Essential Oil Research*, 4 (4): 417–418.
- Ruberto, G., Baratta, T. M., Sari, M., et Kaâbeche, M. (2002). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (4): 251–254.
- Saad, H.-E. A., El-Sharkawy, S. H., et Halim, A. F. (1995). Essential oils of *Daucus carota* ssp. *maximus*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 70 (1): 79–84.
- Sacco, T., Frattini, C., et Bicchi, C. (1983). Constituents of essential oil of *Artemisia arborescens*. *Planta Medica*, 47 (1): 49–51.
- Saeki, Y., Ito, Y., Shibata, M., Sato, Y., Okuda, K., et Takazoe, I. (1989). Antimicrobial action of natural substances on oral bacteria. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 30 (3): 129–135.
- Salgueiro, L. R., Pinto, E., Gonçalves, M. J., Pina-Vaz, C., Cavaleiro, C., Rodrigues, A. G., Palmeira, A., Tavares, C., Costa-de-Oliveira, S., et Martinez-de-Oliveira, J. (2004). Chemical composition

- and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra capitata*. *Planta Medica*, 70 (6): 572-575.
- Sasaki, H., Matsumoto, M., Tanaka, T., Maeda, M., Nakai, M., Hamada, S., et Ooshima, T. (2004), Antibacterial activity of polyphenol components in oolong tea extract against *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 38 (1): 2-8.
- Schmidt, E. (2010). Production of essential oils. In Başer, K. H. C., et Buchbauer, G. (éds.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*, 83-84. Boca Raton, Floride, États-Unis: CRC Press.
- Schnitzler, P., Schuhmacher, A., Astani, A., et Reichling, J. (2008). *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine*, 15 (9): 734-740.
- Shahi, S. K., Shukla, A. C., Bajaj, A. K., Banerjee, U., Rimek, D., Midgely, G., et Dikshit, A. (2000). Broad spectrum herbal therapy against superficial fungal infections. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 13 (1): 60-64.
- Shahmohamadi, R., Sariri, R., Rasa, M., Ghafoori, H., Aghamali, M., Nasuti, S., et Tahery, M. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of flowering aerial parts *Mentha pulegium* from Gilan. *Pharmacologyonline*, 3: 651-659.
- Skoula, M., Abidi, C., et Kokkalou, E. (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24 (3): 255-260.
- Slots, J., Feik, D., et Rams, T. E. (1990a). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides intermedius* in human periodontitis: age relationship and mutual association. *Journal of Clinical Periodontology*, 17 (9): 659-662.
- Slots, J., Feik, D., et Rams, T. E. (1990b). Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. *Oral Microbiology and Immunology*, 5 (6): 305-308.
- Smullen, J., Koutsou, G. A., Foster, H. A., Zumbé, A., et Storey, D. M. (2007). The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 41 (5): 342-349.
- Soares, P. M. G., Assreuy, A. M. S., de Souza, E. P., Lima, R. F., Silva, T. O., Fontenele, S. R., et Criddle, D. N. (2005). Inhibitory effects of the essential oil of *Mentha pulegium* on the isolated rat myometrium. *Planta Medica*, 71 (3): 214-218.
- Soares, P. M. G., de Freitas Pires, A., de Souza, E. P., Assreuy, A. M. S., et Criddle, D. N. (2012). Relaxant effects of the essential oil of *Mentha pulegium* L. in rat isolated trachea and urinary bladder. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64 (12): 1777-1784.
- Soliman, F. M., El-Kashoury, E. A., Fathy, M. M., et Gonaïd, M. H. (1994). Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. *Flavour and Fragrance Journal*, 9 (1): 29-33.

- Souto, R., et Colombo, A. P. V. (2008). Prevalence of *Enterococcus faecalis* in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Archives of Oral Biology*, 53 (2): 155-160.
- Stoyanova, A., Georgiev, E., Kula, J., et Majda, T. (2005). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (5): 475-476.
- Sudjana, A. N., Carson, C. F., Carson, K. C., Riley, T. V., et Hammer, K. A. (2012). *Candida albicans* adhesion to human epithelial cells and polystyrene and formation of biofilm is reduced by sub-inhibitory *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil. *Medical Mycology*, 50 (8): 863-870.
- Sutour, S. Bradesi, P., Casanova, J., et Tomi, F. (2010). Composition and chemical variability of *Mentha suaveolens* ssp. *suaveolens* and *M. suaveolens* ssp. *insularis* from Corsica. *Chemistry & Biodiversity*, 7 (4): 1002-1008.
- Syed, T. A., Qureshi, Z. A., Ali, S. M., Ahmad, S., et Ahmad, S. A. (1999). Treatment of toenail onychomycosis with 2% butenafine and 5% *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in cream. *Tropical Medicine & International Health*, 4 (4): 284-487.
- Takarada, K., Kimizuka, R., Takahashi, N., Honma, K., Okuda, K., et Kato, T. (2004). A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiology and Immunology*, 19 (1): 61-64.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., et Nunes, M. L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36 (1): 81-87.
- Tommasi, L., Negro, C., Cerfedà, A., Nutricati, E., Zuccarello, V., de Bellis, L., et Miceli, A. (2007). Influence of environmental factors on essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in southern Puglia (Italy). *Journal of Essential Oil Research*, 19 (6): 572-580.
- Touafek, O., Nacer, A., Kabouche, A., Kabouche, Z. et Bruneau, C. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* cultivated in the Algerian Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (1): 28-29.
- Touati, B., Chograni, H., Hassen, I., Boussaïd, M., Toumi, L., et Ben Brahim, N. (2011). Chemical composition of the leaf and flower essential oils of Tunisian *Lavandula dentata* L. (*Lamiaceae*). *Chemistry & Biodiversity*, 8 (8): 1560-1569.
- Tschiggerl, C., et Bucar, F. (2010). Volatile fraction of lavender and bitter fennel infusion extracts. *Natural Product Communications*, 5 (9): 1431-1436.
- Tzakou, O., Bazos, I., et Yannitsaros, A. (2009). Essential oil composition and enantiomeric distribution of fenchone and camphor of *Lavandula cariensis* and *L. stoechas* subsp. *stoechas* grown in Greece. *Natural Product Communications*, 4 (8): 1103-1106.

- Usai, M., Foddai, M., Sechi, B., Juliano, C., et Marchetti, M. (2010). Comparison of antibacterial activity of natural and hydroformylated essential oil of *Thymus capitatus* growing wild in north Sardinia with commercial *Thymus* essential oils. *Natural Product Communications*, 5 (12): 1985-1989.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., et Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108 (3): 1019-1022.
- Zwaving, J. H., et Smith, D. (1971). Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*. *Phytochemistry*, 10 (8): 1951-1953.

Annexes

Annexe 1



Figure 6. *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr.



Figure 7. *Artemisia arborescens* (Vaill.) L.



Figure 8. *Artemisia herba-alba* Asso



Figure 9. *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta*



Figure 10. *Daucus carota* subsp. *maximus* (Desf.) Ball



Figure 11. *Daucus crinitus* Desf.



Figure 12. *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter



Figure 13. *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) Bég.



Figure 14. *Foeniculum vulgare* Mill. subsp. *vulgare*



Figure 15. *Lavandula dentata* L. var. *dentata*



Figure 16. *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*



Figure 17. *Mentha × piperita* L.



Figure 18. *Mentha pulegium* L.



Figure 19. *Mentha suaveolens* Ehrh. subsp. *suaveolens*



Figure 20. *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietsw.



Figure 21. *Rosmarinus officinalis* L. subsp. *officinalis*



Figure 22. *Ruta angustifolia* Pers.



Figure 23. *Thymbra capitata* (L.) Cav.



Figure 24. *Thymus pallescens* de Noé



Figure 25. *Visnaga daucooides* Gaertn.

Annexe 2

Tableau 11. Noms scientifiques et leurs synonymes des plantes étudiées.

Nom scientifique	Synonyme ou (citation hétérotypique)
<i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) Breistr.	(<i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.)
<i>Artemisia arborescens</i> (Vaill.) L.	<i>Absinthium arborescens</i> Moench <i>Absinthium arborescens</i> Vaill. <i>Artemisia argentea</i> Willk. & Lange <i>Artemisia elegans</i> Salisb.
<i>Artemisia herba-alba</i> Asso	<i>Artemisia aethiopica</i> L. <i>Artemisia aragonensis</i> Lam. <i>Artemisia lippii</i> Jan ex Besser <i>Artemisia ontina</i> Dufour <i>Artemisia valentina</i> Lam. <i>Seriphidium herba-alba</i> (Asso) Soják
<i>Calamintha nepeta</i> (L.) Savi subsp. <i>nepeta</i>	(<i>Satureja calamintha</i> subsp. <i>nepeta</i> (L.) Briq.)
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i> (Desf.) Ball	<i>Caucalis hispanica</i> Crantz <i>Daucus carnosus</i> Moench <i>Daucus mauritanicus</i> L. <i>Daucus maximus</i> Desf.
<i>Daucus crinitus</i> Desf.	<i>Daucus meifolius</i> Brot. <i>Daucus verticillatus</i> Schousb. ex Ball
<i>Dittrichia graveolens</i> (L.) Greuter	<i>Conyza minor</i> Bubani <i>Cupularia graveolens</i> (L.) Godr. & Gren. <i>Erigeron graveolens</i> L. <i>Inula brahuica</i> Boiss. <i>Inula graveolens</i> (L.) Desf. <i>Inula quadridentata</i> Lag. <i>Jacobaea graveolens</i> (L.) Merino
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i> (Ucria) Bég.	
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill. subsp. <i>vulgare</i>	
<i>Lavandula dentata</i> L. var. <i>dentata</i>	
<i>Lavandula stoechas</i> L. subsp. <i>stoechas</i>	<i>Lavandula approximata</i> Gand. <i>Lavandula corsica</i> Gand. <i>Lavandula debeauxii</i> Gand. <i>Lavandula fascicularis</i> Gand. <i>Lavandula incana</i> Salisb. <i>Lavandula olbiensis</i> Gand. <i>Lavandula stoechadensis</i> St.-Lag. <i>Stoechas arabica</i> Garsault
<i>Mentha</i> × <i>piperita</i> L.	<i>Mentha</i> × <i>adpersa</i> Moench <i>Mentha</i> × <i>balsamea</i> Willd. <i>Mentha</i> × <i>banatica</i> Heinr.Braun <i>Mentha</i> × <i>braousiana</i> Pérard <i>Mentha</i> × <i>citrata</i> Ehrh. <i>Mentha</i> × <i>concinna</i> Pérard <i>Mentha</i> × <i>crispula</i> Wender. <i>Mentha</i> × <i>durandoana</i> Malinv. ex Batt. & Trab. <i>Mentha</i> × <i>exaltata</i> Heinr.Braun <i>Mentha</i> × <i>fraseri</i> Druce <i>Mentha</i> × <i>glabrata</i> Vahl <i>Mentha</i> × <i>hercynica</i> Röhl. <i>Mentha</i> × <i>heuffelii</i> Heinr.Braun

Tableau 11. Noms scientifiques et leurs synonymes des plantes étudiées (suite).

Nom scientifique	Synonyme ou (citation hétérotypique)	
<i>Mentha × piperita</i> L.	<i>Mentha × hircina</i> J.Fraser	
	<i>Mentha × hircina</i> Hull	
	<i>Mentha × hirtescens</i> Heinr.Braun & Topitz	
	<i>Mentha × hortensis</i> Ten.	
	<i>Mentha × hudsoniana</i> Heinr.Braun	
	<i>Mentha × kahirina</i> Forssk.	
	<i>Mentha × langii</i> Geiger ex T.Nees	
	<i>Mentha × napolitana</i> Ten.	
	<i>Mentha × nigricans</i> Mill.	
	<i>Mentha × odora</i> Salisb.	
	<i>Mentha × odorata</i> Sole	
	<i>Mentha × officinalis</i> Hull	
	<i>Mentha × pimentum</i> Nees ex Bluff & Fingerh.	
	<i>Mentha × piperoides</i> Malinv.	
	<i>Mentha × tenuis</i> Frank ex Benth.	
	<i>Mentha pulegium</i> L.	<i>Melissa pulegium</i> (L.) Griseb.
		<i>Mentha albarracinensis</i> Pau
		<i>Mentha aromatica</i> Salisb.
		<i>Mentha aucheri</i> Pérard
		<i>Mentha daghestanica</i> Boriss.
<i>Mentha erinoides</i> Heldr. ex Halácsy		
<i>Mentha exigua</i> L.		
<i>Mentha gibraltaria</i> Willd.		
<i>Mentha hirtiflora</i> Opiz ex Heinr.Braun		
<i>Mentha montana</i> Lowe ex Benth.		
<i>Mentha pulegioides</i> Dumort.		
<i>Mentha subtomentella</i> Heinr.Braun		
<i>Mentha tomentella</i> Hoffmanns. & Link		
<i>Mentha tomentosa</i> Sm.		
<i>Micromeria dalmatica</i> Fenzl		
<i>Micromeria fenzlii</i> Regel		
<i>Micromeria maritima</i> Yild., Sadıkoğlu & M.Keskin		
<i>Minthe pulegia</i> (L.) St.-Lag.		
<i>Pulegium aromaticum</i> Gray		
<i>Pulegium daghestanicum</i> (Boriss.) Holub		
<i>Pulegium erectum</i> Mill.		
<i>Pulegium heterophyllum</i> Opiz ex Boenn.		
<i>Pulegium micranthum</i> Claus		
<i>Pulegium pubescens</i> Opiz ex Boenn.		
<i>Pulegium pulegium</i> H.Karst.		
<i>Pulegium tomentellum</i> C.Presl		
<i>Pulegium vulgare</i> Mill.		
<i>Thymus bidentatus</i> Stokes		
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. subsp. <i>suaveolens</i>	<i>Mentha bauhinii</i> (Ten.) Strail	
	<i>Mentha bellojocensis</i> Gillot	
	<i>Mentha germanica</i> Déségl. & T.Durand	
	<i>Mentha krockeri</i> Strail	
	<i>Mentha linnaei</i> Déségl. & T.Durand	
	<i>Mentha macrostachya</i> Ten.	
	<i>Mentha meduanensis</i> Déségl. & T.Durand	
	<i>Mentha mexicana</i> M.Martens & Galeotti	
	<i>Mentha mucronulata</i> Opiz	

Tableau 11. Noms scientifiques et leurs synonymes des plantes étudiées (suite).

Nom scientifique	Synonyme ou (citation hétérotypique)
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. subsp. <i>suaveolens</i>	<i>Mentha neglecta</i> Ten. <i>Mentha oblongifolia</i> (Lej. ex Malinv.) Strail <i>Mentha pachystachya</i> Timb.-Lagr. & Marçais <i>Mentha ripartii</i> Déségl. & T.Durand (<i>Mentha</i> × <i>rotundifolia</i> (L.) Huds.) <i>Mentha rugosa</i> Lam. <i>Mentha sepium</i> (Déségl. & T.Durand) Heinr.Braun <i>Mentha sylvestris</i> Sole <i>Mentha willdenowii</i> Déségl. & T.Durand
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Ietsw.	<i>Origanum glandulosum</i> Desf.
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. subsp. <i>officinalis</i>	<i>Rosmarinus angustifolius</i> Mill. <i>Rosmarinus communis</i> Noronha <i>Rosmarinus flexuosus</i> Jord. & Fourn. <i>Rosmarinus latifolius</i> Mill. <i>Rosmarinus laxiflorus</i> Noë ex Lange <i>Rosmarinus prostratus</i> Mazziari <i>Rosmarinus rigidus</i> Jord. & Fourn. <i>Rosmarinus serotinus</i> Loscos <i>Rosmarinus tenuifolius</i> Jord. & Fourn.
<i>Ruta angustifolia</i> Pers.	<i>Salvia fasciculata</i> Fernald <i>Salvia rosmarinus</i> Schleid. <i>Ruta chalepensis</i> subsp. <i>angustifolia</i> (Pers.) Cout.
<i>Thymbra capitata</i> (L.) Cav.	<i>Coridothymus capitatus</i> (L.) Rchb.f. <i>Origanum capitatum</i> (L.) Kuntze <i>Satureja capitata</i> L. <i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns. & Link <i>Thymus creticus</i> Garsault
<i>Thymus pallescens</i> de Noé	<i>Thymus fontanesii</i> Boiss. & Reut. <i>Thymus heterophyllus</i> Batt. <i>Thymus latifolius</i> de Noé <i>Thymus monardii</i> de Noé
<i>Visnaga daucooides</i> Gaertn.	(<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam.)

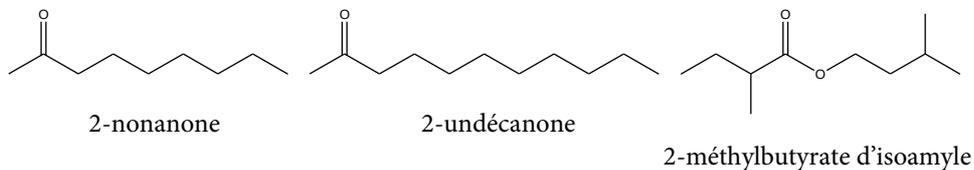
Annexe 3

Tableau 12. Appellations locales des plantes étudiées.

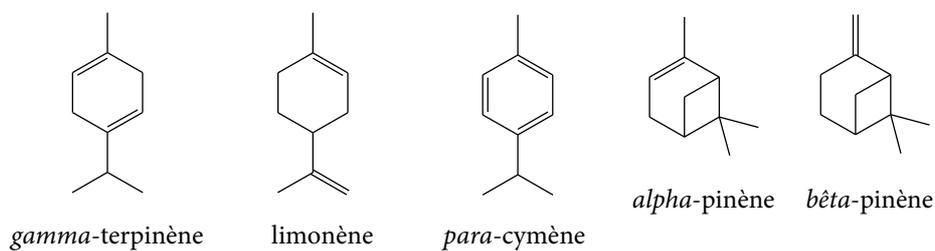
Espèce	Appellation locale	Prononciation (API)	Translittération (en latin)	Transcription (en français)
<i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) Breistr.	نوخة	[nu:xɛ]	nūḥa	noukha
	نونخة	[nu:nxɛ]	nūnḥa	nounkha
<i>Artemisia arborescens</i> (Vaill.) L.	شبية	[ʃi:bɛ]	šība	chiba
	شهبية	[ʃhi:bɛ]	šhība	chehiba
<i>Artemisia herba-alba</i> Asso	شبح	[ʃi:h]	šīḥ	chih
<i>Calamintha nepeta</i> (L.) Savi subsp. <i>nepeta</i>	نابطة	[næ:btʰɛ]	nābṭa	nabta
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i> (Desf.) Ball	سنارية	[sennæ:rɪjjɛ]	sennāriyya	sennaria
	زردية خلوية	[zrʰo:dijjɛ xelwɪjjɛ]	zrōdiyya ḥelwiyya	zrodia khelouia
<i>Daucus crinitus</i> Desf.	بوزفور	[bu:zɛffu:r]	būzɛffūr	bouzeffour
<i>Dittrichia graveolens</i> (L.) Greuter	ميرمان صغير	[mæjɾæmæ:n sʰɣi:r]	mayramān sgīr	meïraman seghir
	مقرمان صغير	[mæqræmæ:n sʰɣi:r]	magramān sgīr	magraman seghir
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i> (Ucria) Bég.	بسباس	[besbæ:s]	besbās	besbas
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill. subsp. <i>vulgare</i>	بسباس	[besbæ:s]	besbās	besbas
<i>Lavandula dentata</i> L. var. <i>dentata</i>	حلحال	[ḥelḥæ:l]	ḥelḥāl	helhal
	خزامة	[xʷzæ:mɛ]	ḥʷzāma	khezama
<i>Lavandula stoechas</i> L. subsp. <i>stoechas</i>	حلحال	[ḥelḥæ:l]	ḥelḥāl	helhal
	خزامة	[xʷzæ:mɛ]	ḥʷzāma	khezama
<i>Mentha × piperita</i> L.	نعناع الفطور	[næʕnæ:ʕ lftʰo:r]	naʿnāʿ lftōr	naânaâ leftour
<i>Mentha pulegium</i> L.	فليو	[flejju:]	fleyyū	fleïou
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. subsp. <i>suaveolens</i>	تيمرسات	[ti:mersa:t]	tīmersāt	timersat
	دمران	[domra:n]	domrān	domran
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Ietsw.	زعترا الحمير	[zaʕter lḥmi:r]	zaʿter lḥmīr	zaâtar lehmīr
	مرددوش	[merdeddu:ʃ]	merdeddūš	merdeddouch
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. subsp. <i>officinalis</i>	باركلا	[bæ:reklɛ]	bārekla	barekla
	أزير	[ʔæzi:r]	azīr	azir
	يزير	[jæzi:r]	yazīr	ïazir
<i>Ruta angustifolia</i> Pers.	فيجل	[fi:ʒel]	fījel	fidjel
<i>Thymbra capitata</i> (L.) Cav.	زعترا الواد	[zaʕter lwæ:d]	zaʿter lwād	zaâtar el oued
<i>Thymus pallescens</i> de Noé	زعترا	[zaʕter]	zaʿter	zaâtar
<i>Visnaga daucoides</i> Gaertn.	خلة	[xellɛ]	ḥella	khella
	سواك النبي	[swæ:k nni:]	swāk nni	souak enni

Annexe 4

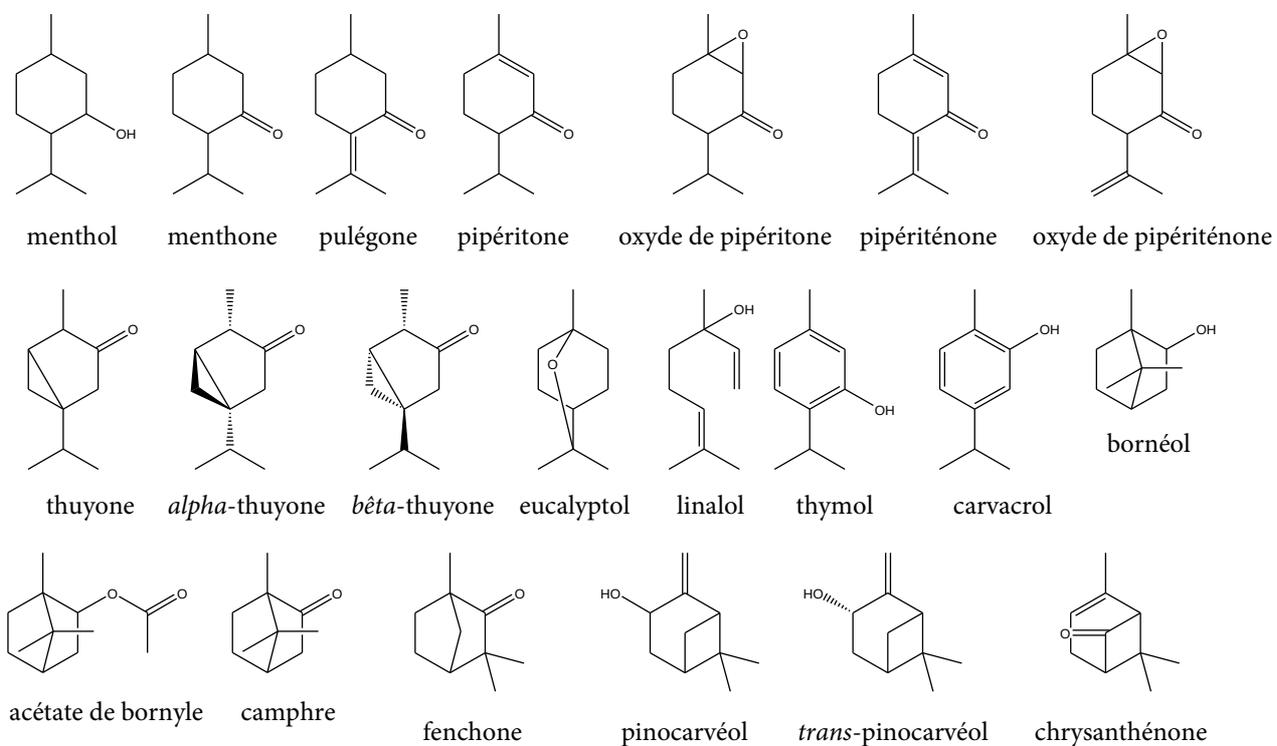
Composés oxygénés non-terpéniques



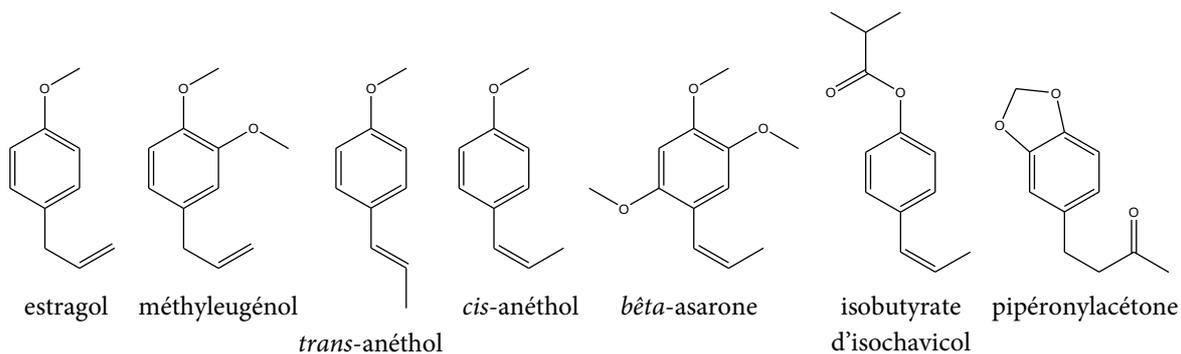
Hydrocarbures monoterpéniques



Monoterpènes oxygénés



Phénylpropanoïdes



Remarque : la pipéronylacétone n'est pas un vrai phénylpropanoïde mais, en fait, c'est un dérivé.

Hydrocarbures sesquiterpéniques

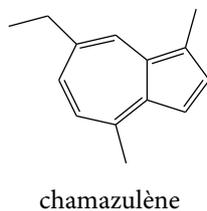


Figure 26. Structures chimiques des composés majoritaires des huiles essentielles étudiées.

Annexe 5

Tableau 13. Diamètres des zones d'inhibition de trois répétitions.

Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Ammoides pusilla</i>	51	33	76	14	7
	48	36	73	16	7
	50	35	75	15	7
<i>Artemisia arborescens</i>	16	9	19	–	–
	14	11	20	–	–
	15	11	18	–	–
<i>Artemisia herba-alba</i>	17	13	34	7	–
	19	15	30	8	–
	19	15	33	8	–
<i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	21	11	48	8	–
	19	12	45	8	–
	20	12	47	8	–
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	9	8	16	–	–
	9	8	17	–	–
	9	8	15	–	–
<i>Daucus crinitus</i>	10	–	14	–	–
	10	–	13	–	–
	10	–	15	–	–
<i>Dittrichia graveolens</i>	26	12	21	–	–
	24	13	22	–	–
	23	10	20	–	–
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	26	11	22	–	–
	24	11	20	–	–
	20	11	21	–	–
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	36	9	18	–	–
	38	10	15	–	–
	36	10	16	–	–
<i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	20	16	34	8	–
	23	15	33	8	–
	21	16	35	9	–
<i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	18	9	26	10	8
	19	11	23	11	8
	18	11	24	8	9
<i>Mentha piperita</i>	30	9	20	7	–
	26	11	19	8	–
	28	10	19	8	–
<i>Mentha pulegium</i>	24	13	38	9	–
	22	12	36	9	–
	24	10	36	9	–
<i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	18	10	30	9	–
	16	10	29	9	–
	17	10	29	9	–

Les résultats sont exprimés en millimètres (mm). – : pas de zone d'inhibition.

Tableau 13. Diamètres des zones d'inhibition de trois répétitions (suite).

Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	38	32	68	16	–
	40	30	70	15	–
	39	30	66	17	–
<i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	40	15	56	10	9
	41	13	53	9	9
	42	14	54	11	7
<i>Ruta angustifolia</i>	15	8	14	–	–
	14	8	13	–	–
	18	8	15	–	–
<i>Thymbra capitata</i>	44	30	60	21	–
	42	28	61	21	–
	41	30	58	19	–
<i>Thymus palleescens</i>	39	35	63	24	–
	43	34	61	20	–
	39	32	64	24	–
<i>Visnaga daucooides</i>	16	11	10	–	–
	17	11	11	–	–
	16	10	10	–	–
Standard	20	16	17	21	16
	19	16	18	20	14
	21	15	16	18	16

Les résultats sont exprimés en millimètres (mm). Standard : gentamicine (10 µg/disque) pour les souches bactériennes, amphotéricine B (20 µg/disque) pour la souche fongique. – : pas de zone d'inhibition.

Annexe 6

Tableau 14. CMI de la croissance de trois répétitions.

Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Ammoides pusilla</i>	1,25	5,00	5,00	20,00	–
	1,25	5,00	5,00	20,00	–
	2,50	5,00	5,00	20,00	–
<i>Artemisia arborescens</i>	2,50	–	–	–	–
	2,50	–	–	–	–
	2,50	–	–	–	–
<i>Artemisia herba-alba</i>	10,00	–	5,00	–	–
	5,00	–	5,00	–	–
	5,00	40,00	5,00	–	–
<i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	10,00	–	5,00	–	–
	10,00	–	5,00	–	–
	10,00	–	5,00	–	–
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Daucus crinitus</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Dittrichia graveolens</i>	5,00	–	5,00	–	–
	10,00	–	5,00	–	–
	5,00	–	5,00	–	–
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	5,00	–	–	–	–
	5,00	–	–	–	–
	5,00	–	–	–	–
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	40,00	10,00	–	–	–
	40,00	10,00	–	–	–
	40,00	10,00	–	–	–
<i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Mentha piperita</i>	–	40,00	–	–	–
	–	40,00	–	–	–
	–	40,00	–	–	–
<i>Mentha pulegium</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–

Les résultats sont exprimés en milligrammes par millilitre (mg/ml). – : CMI non déterminée.

Tableau 14. CMI de la croissance de trois répétitions (suite).

Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	0,63	0,63	1,25	5,00	40,00
	0,63	0,63	1,25	5,00	40,00
	0,63	0,63	0,63	5,00	40,00
<i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	10,00	10,00	40,00	–	–
	10,00	10,00	40,00	–	–
	20,00	20,00	40,00	–	–
<i>Ruta angustifolia</i>	–	–	10,00	–	–
	–	–	10,00	–	–
	–	–	5,00	–	–
<i>Thymbra capitata</i>	1,25	1,25	0,31	2,50	–
	1,25	1,25	0,31	2,50	–
	1,25	1,25	0,31	2,50	–
<i>Thymus palleescens</i>	2,50	2,50	0,31	5,00	–
	2,50	2,50	0,63	5,00	–
	2,50	2,50	1,25	5,00	–
<i>Visnaga daucooides</i>	5,00	–	1,25	40,00	–
	5,00	–	1,25	40,00	–
	5,00	–	1,25	40,00	–
Standard	2,50	5,00	1,25	5,00	5,00
	2,50	5,00	1,25	5,00	5,00
	2,50	5,00	1,25	5,00	5,00

Les résultats sont exprimés en milligrammes par millilitre (mg/ml) pour les huiles essentielles et en microgrammes par millilitre (µg/ml) pour le standard. Standard : gentamicine pour les souches bactériennes, amphotéricine B pour la souche fongique. – : CMI non déterminée.

Annexe 7

Tableau 15. CMI de la formation de biofilms de trois répétitions.

Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Ammoides pusilla</i>	0,16	0,63	5,00	1,25	–
	0,31	1,25	5,00	1,25	–
	0,16	1,25	5,00	2,50	–
<i>Artemisia arborescens</i>	0,63	–	–	–	–
	1,25	–	–	–	–
	1,25	–	–	–	–
<i>Artemisia herba-alba</i>	5,00	20,00	5,00	–	–
	5,00	20,00	5,00	–	–
	2,50	20,00	5,00	–	–
<i>Calamintha nepeta</i> subsp. <i>nepeta</i>	1,25	–	5,00	–	–
	1,25	–	5,00	–	–
	0,63	–	5,00	–	–
<i>Daucus carota</i> subsp. <i>maximus</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Daucus crinitus</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Dittrichia graveolens</i>	5,00	–	5,00	–	–
	5,00	–	5,00	–	–
	5,00	–	5,00	–	–
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>piperitum</i>	5,00	–	–	–	–
	5,00	–	–	–	–
	5,00	–	–	–	–
<i>Foeniculum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Lavandula dentata</i> var. <i>dentata</i>	20,00	10,00	–	–	–
	10,00	5,00	–	–	–
	20,00	10,00	–	–	–
<i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Mentha piperita</i>	–	20,00	–	–	–
	–	20,00	–	–	–
	–	20,00	–	–	–
<i>Mentha pulegium</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
<i>Mentha suaveolens</i> subsp. <i>suaveolens</i>	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–

Les résultats sont exprimés en milligrammes par millilitre (mg/ml). – : CMI non déterminée.

Tableau 15. CMI de la formation de biofilms de trois répétitions (suite).

Espèce	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>	0,16	0,31	1,25	1,25	20,00
	0,16	0,16	1,25	0,63	20,00
	0,16	0,16	0,63	1,25	20,00
<i>Rosmarinus officinalis</i> subsp. <i>officinalis</i>	5,00	5,00	40,00	–	–
	5,00	5,00	40,00	–	–
	5,00	5,00	40,00	–	–
<i>Ruta angustifolia</i>	–	–	10,00	–	–
	–	–	10,00	–	–
	–	–	5,00	–	–
<i>Thymbra capitata</i>	0,31	0,63	0,31	0,63	–
	0,31	0,63	0,31	0,63	–
	0,31	0,31	0,31	0,63	–
<i>Thymus palleescens</i>	0,31	0,63	0,31	1,25	–
	0,63	0,63	0,63	1,25	–
	0,31	0,63	0,63	1,25	–
<i>Visnaga daucooides</i>	1,25	–	1,25	20,00	–
	1,25	–	1,25	20,00	–
	1,25	–	1,25	20,00	–
Standard	2,50	5,00	1,25	5,00	5,00
	2,50	5,00	1,25	5,00	5,00
	2,50	5,00	1,25	5,00	5,00

Les résultats sont exprimés en milligrammes par millilitre (mg/ml) pour les huiles essentielles et en microgrammes par millilitre (µg/ml) pour le standard. Standard : gentamicine pour les souches bactériennes, amphotéricine B pour la souche fongique. – : CMI non déterminée.

Résumé

L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale.

Les huiles essentielles de vingt espèces végétales récoltées dans la région de Tlemcen ont été testées sur la croissance et la formation de biofilms de cinq souches microbiennes connues par leur pathogénicité dans la cavité buccale. La plupart des huiles essentielles étaient actives surtout sur les bactéries à Gram positif et sur *Candida albicans*. Les huiles essentielles les plus actives étaient celles de *Thymbra capitata* (CMI = 0,31 mg/ml pour *C. albicans*) et d'*Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (CMI = 0,63 mg/ml pour *S. aureus* et *E. faecalis*). Les CMI de la formation de biofilms étaient généralement très faibles par rapport à celles de la croissance sauf pour *C. albicans* qui étaient semblables.

Mots-clés : huile essentielle ; croissance ; formation de biofilm ; pathogènes ; cavité buccale.

Abstract

Preventive effect of some essential oils against growth and biofilm formation of some oral pathogens.

Essential oils of twenty plant species harvested in the Tlemcen region were tested on growth and biofilm formation of five microbial strains known for their pathogenicity in the oral cavity. Most essential oils were active mainly on Gram-positive bacteria and *Candida albicans*. The most active essential oils were those of *Thymbra capitata* (MIC = 0.31 mg/ml for *C. albicans*) and *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (MIC = 0.63 mg/ml for *S. aureus* and *E. faecalis*). The MICs of biofilm formation were generally quite low compared to those of growth except for *C. albicans* which were similar.

Keywords: essential oil; growth; biofilm formation; pathogens; oral cavity.

ملخص

التأثير الوقائي لبعض الزيوت العطرية ضد نمو بعض الأحياء الدقيقة المسببة للمرض داخل التجويف الفموي وضد تشكل أشراطها الحيوية.

عشرون نبتة من منطقة تلمسان قد تم جنيها وتجربة زيوتها العطرية على خمس سلالات جرثومية معروفة بقدرتها على تسبب المرض داخل التجويف الفموي وذلك لمعرفة مدى إمكانية نموها وكذا إمكانية تشكيلها للأشربة الحيوية. كانت معظم الزيوت العطرية فعالة وخاصة ضد البكتيريا إيجابية الغرام وضد المبيضة البيضاء، حيث أن أكثرها فعالية كانت الزيوت العطرية لكل من الزعتر الرؤيسي (ت.م.أ = 0,31 مغ/مل للمبيضة البيضاء) والمردقوش الغديدي (ت.م.أ = 0,63 مغ/مل لكل من العنقودية الذهبية والمعوية البرازية). كانت التراكيز المثبطة الدنيا لتشكل الأشربة الحيوية جد منخفضة على العموم بالمقارنة مع تلك الخاصة بالنمو باستثناء المبيضة البيضاء حيث كانت متماثلة.

الكلمات الدالة : زيت عطري؛ نمو؛ تشكل أشربة حيوية؛ جراثيم مسببة للمرض؛ تجويف فموي.