



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Thèse de Doctorat

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat L.M.D

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie Alimentaire

Présentée par :

OULD AMER Imane

Thème

**Effet de l'ail « *Allium sativum* L. » sur la flore
buccale**

Soutenu publiquement le 22 / 02 /2024

Devant le jury :

M ^{me} MIHOUB Fatma	Présidente	Professeur	Université de Tiaret
M. BELHAMITI Belkacem Tahar	Examineur	MCA	Université de Tiaret
M. ZIANI Kaddour	Examineur	Professeur	Université de Saida
M. ADLI Djallal Eddine	Examineur	Professeur	Université de Saida
M. SELLES Sidi Mohammed Ammar	Directeur de thèse	MCA	Université de Tiaret
M. HOCINE Laaredj	Co-Directeur de thèse	MCA	Université de Tiaret

Année universitaire : 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا

{ سُورَةُ طه }



Remerciements

Louanges à Dieu qui m'a donnée le privilège de poursuivre mes études et de côtoyer des professeurs de qualité qui m'ont bien formée par leurs connaissances et leurs expériences. En effet, je n'aurais jamais pu progresser dans cette phase délicate sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de « pharmacologie », sous la direction de Dr **SELLES Sidi Mohamed Ammar**, en collaboration avec les laboratoires de « Microbiologie » de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et celui de l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun - Tiaret.

Mes plus vifs remerciements s'adresseront à :

A mon ancien directeur de thèse, Professeur DILMI BOURAS Abdelkader,

Je tiens à le remercier en premier lieu, pour ses multiples conseils. J'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines, que Dieu le protège.

A mon directeur de thèse actuel, Dr. SELLES Sidi Mohamed Ammar,

Cette thèse n'aurait jamais vu le jour sans son soutien. Je le remercie infiniment d'avoir accepté de diriger ce travail et de m'avoir suivie durant sa réalisation. Je voudrai le remercier d'avoir été le professeur qui a réussi à me donner la confiance et l'envie d'apprendre. Je retiendrai de lui, son sens du devoir, de dévouement et de discipline, merci de m'avoir conférée le meilleur des encadrements.

Veillez trouver dans ce travail, très cher maître, le témoignage de ma gratitude et ma profonde reconnaissance.

A Dr. HOUDJE Laaredj, Je souhaiterai exprimer ma gratitude à mon co-directeur de thèse et mon ancien enseignant, pour m'avoir soutenue et de m'avoir donnée l'envie de continuer ce long chemin.

Mes vifs remerciements vont également à Madame le professeur **MIHOUB Fatma** pour le grand honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance de thèse de doctorat.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le Docteur **BELHAMITI Belkacem Tashar**, Monsieur le Professeur **ZIANI Kaddour** ainsi que Monsieur le Professeur **ADLI Djallal Eddine** pour avoir aimablement accepté de participer à ce jury.

A Docteur OULD HAMADOUCHE Nadir, à qui je dois tant, mon idole et ma fierté, je n'oublierai jamais son soutien et ses encouragements, celui qui n'as pas cessé de m'aider jusqu'aux derniers moments.

Un grand merci.

Je tiens également à témoigner toute ma reconnaissance à :

Dr. KADHI Samir, Vice Doyen chargé de la post-graduation, de la recherche scientifique et des relations extérieures, je vous remercie pour vos efforts déployés en faveur des doctorants.

Dr. AIT AMRANE Ammar, pour ces conseils et son soutien moral, mes meilleurs vœux de rétablissement rapide.

Je m'adresse également à toutes les équipes des cabinets dentaires qui m'ont accueillie. Merci aux chirurgiennes-dentistes : Dr. LARBI Khadija, Dr. ABED Shahinda, Dr. LEKMITI Hadjer.

A Madame le professeur Kouidri Mokhtaria, Je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude pour le temps et l'effort qu'elle a consacré à la correction et à l'amélioration de la qualité de mon travail.

Mes vifs remerciements vont être adressées à Madame SMAIL Lila, Ingénieur et responsable du laboratoire de Microbiologie au niveau de la faculté SNV, pour la correction minutieuse qu'elle avait apporté et qui a été extrêmement précieuse, et je suis reconnaissante pour ces commentaires constructifs. Je la remercie spécialement pour son professionnalisme, sa disponibilité et sa générosité.

Dr. SMAIL Fadila, Dr. CHADLI, Dr. BAGHDAD, pour leurs multiples conseils et leurs soutien moral.

A M^{me} NAAMANE Karima, Responsable du laboratoire de Microbiologie (ISV) pour la liberté qu'elle m'a accordée pour réaliser mes expériences.

Mes remerciements vont à tous les enseignants qui ont guidé mes pas depuis le primaire jusqu'à l'université.

À tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué d'une manière ou d'une autre à la bonne réalisation de cette thèse en me prodiguant leurs conseils, leurs encouragements et leurs affections.

J'exprime toute ma gratitude

Un grand merci à vous tous

..

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Allah, le tout puissant, le clément et le miséricordieux, gloire à lui, et à son prophète Mohamed que la paix et le salut éternel soit sur lui et ses disciples. Merci, de m'avoir donnée la vie, la santé, et l'inspiration nécessaire pour mener à bien ce travail.

Mes très chers parents,

Papa, de tous les pères, tu es le meilleur, tu nous as éduqués et élevés à être modeste et respectueux. A toutes les peines et les sacrifices dont tu as fait preuve pour m'aider à mener à bien mes études. Je ne te remercierai jamais assez d'avoir tout fait pour m'offrir la chance de réussir et d'avoir toujours cru en moi. Cette thèse est aussi la tienne.

Maman, tes prières m'ont été d'un secours inestimable tout au long de ma vie, sans que je n'aie pu enchaîner un pas sans en craindre le suivant. Tu m'as tant donnée et je te dois tout. Si aujourd'hui j'en suis là, c'est en grande partie grâce à toi.

Ma chère tante, Taous, tu as joué un rôle particulier dans ma vie. Je veux profiter pour te remercier des soins et de l'affection que tu m'as prodiguée au fil des ans. Merci de m'avoir toujours encouragée sur cette voie qui aboutit à ce jour. chose que je témoigne, et ma reconnaissance est éternelle.

A mon frère **Omar**, protecteur et bienveillant.

Mon cher mari Hassine, mon Ame sœur, sans qui la réalisation de ce projet n'aurait pu aboutir. Tu étais et tu es encore mon pilier. Je suis très reconnaissante de tes encouragements et surtout ton soutien moral. Merci aussi de m'avoir supportée durant ces longues années.

A mes chers enfants, **Amira, Siline et Adem** : Merci d'avoir donné un sens à mon combat, et d'avoir rempli ma vie de joie et d'espoir.

Je pense à ma jumelle sœur au grand cœur **Amel** et son mari **Samir**, qui m'ont toujours encouragée et motivée, ainsi que mes nièces, **Rosa et Sophie**.

A ma sœur et complice de toujours **Nesrine**, et mes chères, **Sihem et Feriel**. Pour tous nos moments de joie et de complicité... nos luttes et nos tristesses... Pour tous les moments qui restent à venir... Je vous aime.

Mes très chères familles, **OULD HAMADOUCHE ; OULD AMER** ; mes tantes, mes oncles et leurs enfants,

Tous les membres de ma belle-famille, **ACHIR** ; merci de m'avoir soutenue durant mes années d'étude.

A la mémoire de mes chers oncles **Abd Ellhakim et Hacem** qui ont quitté ce monde très tôt mais qui resteront toujours gravés dans mon cœur.

Mes amies ; **Amel, Houria, Hacéra et Yamina**, Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

J'ai rédigé cette thèse le cœur serré et en retenant mes larmes...

Grand merci à vous tous

Table des matières

Liste des illustrations.....	i
Liste des abréviations.....	iv
Liste des annexes.....	vi
Résumé	vii
ملخص.....	viii
Abstract.....	ix
Introduction.....	1

Chapitre I : Flore buccale

1. Généralités sur la carie dentaire.....	7
2. Eléments clés de la cavité buccale.....	7
2.1. Anatomie de l'organe dentaire.....	7
2.2. Microbiote oral.....	8
2.2.1. Description	8
2.2.2. Acquisition.....	10
2.2.3. Composition du microbiote oral des individus sains	11
2.3. Facteurs favorisant l'apparition des caries	15
2.4. Notion d'homéostasie et de dysbiose microbienne	17
2.5. Notion de biofilm.....	18
2.6. Micro-organismes impliqués dans la formation des maladies buccodentaires	20
2.6.1. Caries dentaires.....	20
2.6.2. Maladies parodontales	21
2.7. Caries dentaires et maladies systémiques.....	23

Chapitre II : Antibiorésistance

1. Antibiorésistance	27
2. Résistance aux antimicrobiens	28
2.1. Résistance naturelle.....	28
2.2. Résistance acquise	29
2.3. Mécanismes d'action des antibiotiques	29
2.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	30
2.5. Antibiorésistances des micro-organismes buccaux	33

Chapitre III : Ail « *Allium sativum* L. » et ses huiles essentielles

1. Généralités sur la plante médicinale « <i>Allium sativum</i> L. »	36
1.1. Historique et Origine.....	36
1.2. Dénominations vernaculaires.....	37

1.3. Classification botanique.....	38
1.4. Description botanique.....	38
1.5. Composition chimique.....	39
2. Huile essentielle.....	40
2.1. Définition	40
2.2. Propriétés des huiles essentielles.....	41
2.3. Composition chimique.....	41
2.4. Méthodes d'extraction.....	43
2.5. Méthodes d'analyses.....	43
2.6. Domaine d'application.....	44
2.7. Activité biologique.....	44
2.7.1. Activité antimicrobienne.....	44
2.7.2. Activité antioxydante	46
2.7.3. Activité antiinflammatoire	47
3. Effet des Huiles essentielles d'ail	47
3.1. Efficacité de l'huile essentielle d'ail sur la santé orale humaine	49

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Première partie : Isolement et identification des germes buccaux chez les personnes souffrant de caries dentaires

1. Population cible	54
2. Méthodes	54
2.1. Collecte des échantillons	56
2.2. Enrichissement	56
2.3. Détection des bactéries et des levures cariogènes	57
2.3.1. Culture bactérienne et fongique	57
2.3.2. Purification	57
2.3.3. Identification phénotypique des isolats bactériens.....	57
2.3.4. Identification des <i>Candida</i>	60
2.4. Antibiogramme.....	63
2.4.1. Application.....	63

Deuxième partie : Etude phyto-chimique et activité antioxydante

1. Plante médicinale	66
1.1. Extraction de l'huile essentielle.....	66
1.2. Analyse de la composition chimique des H.Es par CG/MS et CG/FID	68
1.3. Activités antioxydantes.....	68
1.3.1. Pouvoir réducteur	68
1.3.2. Activité anti-radicalaire à l'égard du DPPH	70
1.3.3. Analyse statistique	71

Troisième partie : Etude *in-vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique

1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	73
1.1. Préparation de l'inoculum	73
1.2. Test préliminaire « <i>in-vitro</i> »	73
1.3. Détermination des CMI et CMB par la méthode de micro-dilution	74

Résultats & Discussion

Première partie : Isolement et identification des germes buccaux chez les personnes souffrant de caries dentaires

1. Résultats de l'isolement.....	78
1.1. Fréquences d'isolement des germes buccaux	78
1.2. Fréquences d'isolement des espèces microbiennes buccales	78
2. Résultats de l'antibiogramme.....	84
2.1. Résistance aux antibiotiques.....	84
2.2. Multirésistance	87

Deuxième partie : Etude phyto-chimique et activité antioxydante

1. Huile essentielle.....	91
1.1. Rendement d'extraction.....	91
1.2. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle d'ail.....	92
1.3. Activité antioxydante de l'huile essentielle d'ail	96

Troisième partie : Etude *in-vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique

1. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	100
1.1. Technique de diffusion sur disque.....	100
1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	103
2. Activité antifongique des huiles essentielles	104

2.1. Détermination de la sensibilité.....	104
2.2. Détermination de la concentration minimales inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMB)	106
Conclusion et perspectives.....	110
Références Bibliographiques.....	112
Annexes	

Liste des illustrations

Liste des figures

Partie Bibliographique

Figure 1.1 : Anatomie externe d'une dent monoradiculée (A) et d'une dent pluriradiculée (B)	08
Figure 1.2 : Composition de la cavité et du microbiome oral	09
Figure 1.3 : Changement de la composition du microbiote oral durant le développement infantile	11
Figure 1.4 : Espèces bactériennes majoritairement retrouvées dans la cavité buccale en fonction des surfaces anatomiques orales	14
Figure 1.5 : Facteurs influençant l'homéostasie de la flore buccale	16
Figure 1.6 : Dysbiose du biofilm oral conduisant aux caries dentaires	18
Figure 1.7: Dépôt de la plaque dentaire (Biofilm)	19
Figure 1.8 : Propriétés du biofilm : Assemblage d'un micro-environnement complexe	20
Figure 1.9 : Biogéographie de la colonisation du microbiote oral dans les divers habitats de la cavité buccale	23
Figure 1.10: Relation entre caries dentaires et maladies systémiques	24
Figure 1.11 : Différents mécanismes d'action des antibiotiques.....	30
Figure 1.12 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à Gram négatif	31
Figure 1.13 : L'usage d'antibiotiques favorisant l'apparition d'un plus grand nombre de gènes associés à l'antibiorésistance dans toutes les biosphères	33
Figure 1.14 : Bulbes d'ail frais pour usage culinaire/ aromatisant ou médicinal	37
Figure 1.15 : Composants bioactifs produits lors de la transformation de l'ail	40
Figure 1.16 : Principaux composants de l'huile essentielle d' <i>Allium sativum</i> L.	48

Partie Expérimentale

Matériel & Méthodes

Figure 2.1 : Protocole expérimental récapitulatif d'isolement et d'identification des agents responsables de caries dentaires.	55
Figure 2.2 : Bulbe d' <i>Allium sativum</i> L.	66
Figure 2.3 : Dispositif d'hydrodistillation	67
Figure 2.4 : Protocole de détermination du pouvoir réducteur.	69
Figure 2.5 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire au DPPH	70

Résultats & Discussion

Figure 2.6 : Fréquences d'isolement des micro-organismes buccaux	78
Figure 2.7 : Fréquences d'isolement des espèces microbiennes buccales.....	79

Figure 2.8 : Résultats de l'antibiogramme des différentes souches appartenant au genre <i>Staphylococcus</i> .	84
Figure 2.9 : Résultats de l'antibiogramme des différentes souches appartenant au genre <i>Aerococcus</i>	86
Figure 2.10 : Résultats de l'antibiogramme des différentes souches appartenant au Entérobactéries	87
Figure 2.11 : Multirésistance des isolats cliniques étudiés.	88
Figure 2.12 : Multirésistance des espèces étudiées.	88
Figure 2.13: Effet de l'H.E de <i>Allium sativum</i> L. sur <i>Aerococcus viridan</i> .	101
Figure 2.14: Effet de l'HE de <i>Allium sativum</i> L. sur A : <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 et B : <i>E. coli</i> ATCC 25922	101
Figure 2.15: Résultat du test de sensibilité de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis d'un isolat clinique de <i>C. albicans</i> .	105
Figure 2.16: Résultat du test de sensibilité de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis de <i>C. albicans</i> ATCC 25923.	105

Liste des tableaux

Partie Bibliographique

Tableau 1.1 : Phylums et genres bactériens rencontrés respectivement au niveau de la cavité orale.	12
Tableau 1.2 : Classification botanique d'ail « <i>Allium sativum</i> L. »	38

Partie expérimentale

Matériel & Méthodes

Tableau 2.1: Aspect et couleur des colonies orientant l'identification des levures appartenant au genre <i>Candida</i> .	61
Tableau 2.2: Aspect et couleur des colonies orientant l'identification des levures appartenant au genre <i>Candida</i> .	61
Tableau 2.3 : Liste des antibiotiques à tester.	63

Résultats & Discussion

Tableau 2.4: Rendement en huile essentielle.	91
Tableau 2.5: Composition chimique de l'huile essentielle d'ail « <i>Allium sativum</i> L. » par CG/MS – CG/FID	92
Tableau 2.6: Résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'ail et des molécules de référence.	97
Tableau 2.7: Halos d'inhibition en (mm) (moyenne ± écart type) provoqués par l'huile essentielle testée.	100
Tableau 2.8: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) mg/ml (n =3).	103
Tableau 2.9: Halos d'inhibition en (mm) provoqués par l'huile essentielle testée.	104

Tableau 2.10: CMI et CMF obtenue de l'HE d'*A. sativum* nécessaires pour l'inhibition totale de la croissance fongique *in-vitro* en µg/ml (n=3). 106

A. : *Allium*

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

API: Analytical profile index

ARN: Acide ribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

BHIB : Bouillon coeur-cerveille ou Brain Heart Infusion Agar

C.: *Candida*

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMF : Concentration minimale fongicide

CMI : Concentration inhibitrice minimale

CPG/ FID : Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur d'ionisation de flamme

CPG/ SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse

DADS : Disulfure de diallyle

DAS : Sulfure de diallyle

DATS : Trisulfure de diallyle

DNase : Désoxyribonucléase

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EC₅₀ : Concentration Efficace médiane

EO : Essential oil

EPS: Exopolysaccharides

F. : *Fusobacterium*

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

FTIR : Détecteur Infrarouge à Transformateur de Fourier

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

HE : Huile essentielle

HEs : Huiles essentielles

HOMD : Données du Microbiome Oral Humain

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane ou the half maximal inhibitory concentration

IR : Infrarouge

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium

LPS : Lipopolysaccharide

N : Normalité

Na₂ SO₄: Sulfate de sodium anhydre

NaCl : Chlorure de sodium

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards

OMS : Organisation Mondiale de Santé

P. : *Porphyromonas*

P/P : Poids / Poids

pH : Potentiel Hydrogène

PPs : Phénylpropanoïdes

RAT : Riz, Agar, Tween 80

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SM : Spectroscopie de masse

Sp. : Espèces

Spp. : Plusieurs espèces

TCA : Trichloroacétique

TM7 : *Saccharibacteria*

TTC : Chlorure de 2, 3, 5- triphényl-tétrazolium

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

Liste des annexes

Annexe I: Composition de quelques milieux de culture utilisés.	I
Annexe II: Résultats du test de la recherche de la DNase.....	III
Annexe III: Résultats de l'indentification bactérienne par galeries Api	IV
Annexe IV: Résultats de l'indentification des Candida albicans	V
Annexe V: Activités antioxydantes	VI
Annexe VI: Profil chromatographique (CG-MS/CG-FID).....	VIII
Annexe VII: Résultats de l'aromatogramme : méthode des microdilutions.....	IX

Les remèdes naturels ont prouvé leurs efficacités en se comparant aux antibiotiques commerciaux et avec moins d'effets secondaires. Cette étude avait comme objectifs ; l'isolement des différentes espèces bactériennes et fongiques à partir des patients souffrant de caries dentaires, la détermination de leurs résistances envers plusieurs familles d'antibiotiques propre à chaque genre isolé, l'extraction et l'évaluation de la composition chimique des huiles essentielles (HEs) d'ail, et l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne *In-vitro* vis-à-vis des isolats multi-résistants.

Vingt-six échantillons de caries dentaires ont été collectés de patients infectés, une culture bactériologique sur les milieux Mac Conkey, Chapman, gélose au sang, Mitis salivarius, et sabouraud + Chloramphénicol, suivie d'une identification par les galeries Api E20, Api 20 Staph, Api 20 Strep ont été réalisées. La détermination de la multirésistance des souches isolées a été déterminée par la méthode de diffusion des disques. Les HEs ont été extraites par hydrodistillation à partir des bulbes frais d'*Allium sativum* L. et leur profil chimique a été déterminé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) et la CG couplée à un détecteur à ionisation de flamme. Leurs activités antioxydantes ont été évaluées par la suite par la méthode du pouvoir réducteur FRAP et celle de piégeage des radicaux libre DPPH. L'activité antimicrobiennes des HEs a été étudiée vis-à-vis de 16 isolats multi-résistants associés aux caries dentaires et trois souches de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Candida albicans* ATCC 25923) par aromatoگرامme suivie d'une micro-dilution.

L'isolement à partir des échantillons buccaux dévoile la dominance des souches d'*Aerococcus viridans* (45.71%), suivi par *Candida albicans* (17.14%), *Staphylococcus epidermidis* (14.29%), *Staphylococcus aureus* (11.29 %) et *Klebsiella oxytoca* (5.71%).

Le rendement en HE était de l'ordre de 0.17 ± 0.009 % (p/p). Le disulfure de diallyle était le composant majoritaire de cette HE avec un taux de 39.22% suivi par le trisulfure de diallyle (34.85%), l'isomère de disulfure de diallyle (5.45%), le disulfure d'allyle méthyle (5.20%), le trisulfure d'allyle méthyle (3.75%) et le sulfure de diallyle (3.70%). L'essai de piégeage des radicaux DPPH a révélé une concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) de 51.12 ± 11.77 mg/ml. Tandis que l'essai du pouvoir réducteur ferrique a enregistré une concentration efficace médiane (EC_{50}) de 6.54 ± 0.63 mg/ml.

L'activité antimicrobienne « *in-vitro* », a montré des CMF allant de 296.875 à 593.75 μ g/ml et qui étaient suffisantes pour tuer les souches de *C. albicans* testées, alors que des CMI beaucoup plus élevées d'une valeur de 9.5 mg/ml ont été constatées pour inhiber la croissance des quatre isolats testés (2 isolats de *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus xylosus* et *Aerococcus viridans*). Cependant, des valeurs supérieures à 9.5mg/ml étaient nécessaires pour inhiber la croissance des deux souches de références (*E. coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

La présente étude a révélé que l'huile essentielle étudiée puisse constituer un alternatif aux agents antibactériens et antifongiques et pourra être utilisé contre les isolats testés provoquant des caries dentaires.

Mots clés : Ail « *Allium sativum* L. », caries dentaires, micro-organismes cariogènes, antibiorésistance, huile essentielle, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

أثبتت العلاجات الطبيعية فعاليتها مقارنة بالمضادات الحيوية التجارية وبآثار جانبية أقل. وقد حددت هذه الدراسة أهدافاً تكمن في عزل أنواع بكتيرية وفطرية مختلفة من المرضى الذين يعانون من تسوس الأسنان واختبار مقاومتها لعدة فئات من المضادات الحيوية الخاصة بكل جنس معزول، تحديد التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية للثوم، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات متعددة المقاومة في المختبر. تم جمع ست وعشرين عينة من الأسنان المصابة بالتسوس من المرضى، وزراعتها في أوساط ملائمة بكل نوع، *gélose Mitis salivarius*، *Gélose au sang*، *Chapman*، *Mac Conky*، و *Sabouraud + Chloramphénicol*. يتم بعدها تحديد صنف البكتيريا بواسطة مجموعة من الاختبارات والمتمثلة في الاختبارات البيوكيميائية باستخدام نظام، *API 20 Strep*، *Api 20 Staph*، و *Api 20E*. تم تحديد السلالات المعزولة المتعددة المقاومة لمجموعة من المضادات الحيوية بواسطة طريقة انتشار القرص.

تم استخلاص الزيت الأساسي للثوم عن طريق التقطير المائي من الأبصال الطازجة لنبات *Allium sativum* L. وتم تحديد التركيب الكيميائي بواسطة تحليل كروماتوغرافيا الغاز مقروناً بمقياس الطيف الكتلي (GC-MS) وكروماتوغرافيا الغاز مقترنة بكاشف التأين باللهب في حين تم تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة بواسطة طريقة القوة الإختزالية *FRAP* وطريقة *DPPH*.

تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ضد 16 عزلة متعددة المقاومة مرتبطة بتسوس الأسنان وثلاث سلالات مرجعية (*Escherichia coli* ATCC 25922، *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 و *Candida albicans* ATCC 25923 بواسطة مخطط عطري متبوع بالتخفيف الجزئي.

أظهرت العزلة من العينات الفموية سيادة سلالات *Aerococcus viridans* بنسبة (45.71%)، تليها *Candida albicans* بنسبة (17.14%)، *Staphylococcus epidermidis* (14.29%)، و *Staphylococcus aureus* (11.29%)، *Klebsiella oxytoca* (5.71%).

بلغ مردود استخلاص الزيت الأساسي حدود 0.09 ± 0.17 %. بينما بين التحليل الكروماتوغرافي أنها غنية بمركبات الكبريت، كثنائي كبريتيد ثنائي الأليل هو المكون الغالب في هذا الزيت الأساسي بمعدل 39.22%، ثلاثي كبريتيد ثنائي الأليل (34.85%)، ممتاكب ثاني كبريتيد ثنائي الأليل (5.45%)، كبريتيد مثيل الأليل (5.20%)، ثلاثي كبريتيد ميثيل الأليل (3.75%) وكبريتيد ثنائي الأليل (3.70%).

كشفت اختبار الكسح الجذري *DPPH* عن تركيز مثبت متوسط (IC_{50}) قدره 51.12 ± 11.77 ملجم / مل، في حين سجل اختبار قدرة الاختزالية تركيزاً فعالاً متوسطاً (EC_{50}) قدره 6.54 ± 0.63 ملجم / مل. أظهرت الدراسة أن قيمة تركيز النشاط المثبط لنمو السلالات البكتيرية المدروسة (*CMI*) «في المختبر»، تتراوح ما بين 296.875 و 593.75 ميكروجرام/مل، والتي كانت كافية لتنشيط سلالات *Candida albicans* التي تم اختبارها، بينما كانت قيمته أعلى بكثير بالنسبة للسلالات الأخرى حيث بلغت 9.5 ملجم/مل.

كشفت الدراسة الحالية أن الزيوت العطرية المدروسة يمكن أن تشكل بديلاً للعوامل المضادة للبكتيريا والفطريات والتي يمكن استخدامها ضد العزلات التي تم اختبارها والتي تسبب تسوس الأسنان.

الكلمات المفتاحية: الثوم «*Allium sativum* L.»، تسوس الأسنان، الكائنات الحية المسببة للتسوس، الكائنات المجهرية المقاومة للمضادات الحيوية، نشاط مضادات الأكسدة، الزيوت العطرية، نشاط مضادات الميكروبات.

Natural remedies have proven to be very effective and have fewer side effects than commercial antibiotics.

The objectives of this work were to isolate various bacterial and fungal species from patients suffering from dental caries and to test their resistance to several families of antibiotics specific to each genus isolated, assessment of the chemical composition of essential garlic oils, and the evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of multi-resistant isolates *in-vitro*.

Twenty-six dental caries samples were collected from infected patients, bacteriological culture on Mac Conkey, Chapman, blood agar, Mitis salivarius, and Sabouraud + chloramphenicol media, followed by identification by Api E20, Api 20 Staph, Api 20 Strep galleries. Multidrug resistance of isolated strains was determined using the disk diffusion method.

Essential oil was extracted by hydrodistillation, chemical compounds were quantified by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography with flame ionization detection. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and ferric reducing power were used to study antioxidant activity. Antibacterial activity was carried out by the disk diffusion method. The antibacterial activity of EO was studied against 16 multi-resistant isolates associated with dental caries and three reference strains (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Candida albicans* ATCC 25923) by aromatogram followed by micro-dilution.

Isolation from buccal samples revealed the dominance of *Aerococcus viridans* strains (45.71%), followed by *Candida albicans* (17.14%), *Staphylococcus epidermidis* (14.29%), *Staphylococcus aureus* (11.29%) and *Klebsiella oxytoca* (5.71%).

The EO yield was of the order of 0.17 ± 0.09 % (w/w). The chemical profile rich in sulfur compounds, diallyl disulfide was the major component of this EO, with 39.22% diallyl trisulfide (34.85%), diallyl disulfide isomer (5.45%), allyl methyl disulfide (5.20%), allyl methyl trisulfide (3.75%) and diallyl sulfide (3.70%).

The DPPH radical scavenging assay showed the median inhibitory concentration (IC₅₀) value of 51.12 ± 11.77 mg/ml, while the ferric reducing power assay recorded the median effective concentration (EC₅₀) value of 6.54 ± 0.63 mg/ml. The "*in-vitro*" inhibitory activity study showed that MICs of around 593.75 and 296.875 µg/ml were sufficient to inhibit the *C. albicans* strains tested, while much higher MICs of 9.5mg/ml were found to inhibit the growth of the four isolates tested (2 isolates of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* and *Aerococcus viridans*). However, values in excess of 9.5mg/ml are required to inhibit the growth of the two reference strains (*E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 6538).

The present study revealed that the essential oil studied can constitute an alternative to antibacterial and antifungal agents for use against the isolates tested causing dental caries.

Key words: Garlic « *Allium sativum* L. », dental caries, cariogenic microorganisms, antibiotic resistance, essential oil, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Introduction

Parmi les maladies buccales, la carie dentaire est particulièrement l'affection humaine la plus dominante, qui touche davantage de personnes dans les pays en développement (Petersen, 2004). En 2016, d'après l'enquête de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) portant sur la charge mondiale de morbidité, près de 3,58 milliards d'individus ont été affectés par des affections bucco-dentaires (Alsuraim et Han, 2020). C'est une maladie totalement évitable qui affecte lourdement l'économie et la qualité de vie (Pitts et al., 2017). Il est actuellement reconnu que cette maladie est le résultat d'une multitude de facteurs dont le microbiote oral, l'environnement oral, l'hôte et le temps, qui aboutissent à la destruction et la déminéralisation des tissus durs des dents (Sivamaruthi et al., 2020). On parle principalement de micro-organismes pathogènes dits « cariogènes » qui constituent la clé du développement de ce fléau (Chen et al., 2020 ; Cruz et al., 2022).

Plusieurs rapports suggèrent que l'acidification du micro-environnement buccal s'accompagne d'une perte de diversité et d'une réduction des niveaux et de l'activité métabolique des bactéries bénéfiques, conduisant à l'accroissement des taux de bactéries cariogènes au fur et à mesure que la gravité de la maladie augmente (Islam et al., 2007 ; Bin et al., 2020 ; Radaic et Kapila, 2021). C'est le cas de la colonisation de la bouche des souches multi résistantes aux divers antimicrobiens (Cruz et al., 2022 ; Panpatil et al., 2013 ; Roh et Kim, 2018 ; Su et al., 2020).

L'émergence de l'antibiorésistance, proprement dite : de la multirésistance aux antibiotiques, prend une ampleur considérable. Globalement, ce défi qui menace l'existence humaine en raison du nombre limité d'antimicrobiens, entraîne la reprise des maladies infectieuses mortelles. En effet, l'âge d'or des antibiotiques est terminé comme de plus en plus rendus inefficaces par leurs l'usage abusif et anarchique (Sahani et al., 2021).

Dans le cadre des efforts visant la recherche de nouveaux agents alternatifs aux antibiotiques conventionnels, les chercheurs ont exploré de manière intensive la puissance de divers composés dérivés de sources végétales (Milutinovici et al., 2021).

De nos jours, les remèdes naturels ont prouvé leurs efficacités sans en craindre d'effets secondaires tel est le cas chez les antibiotiques conventionnels. Grâce à leurs divers effets thérapeutiques antioxydants, anti-inflammatoires, et antimicrobiens...etc (Dziri et al., 2014) aussi bien que leur potentiel dans les traitements de plusieurs pathologies orales dont les pulpites, les maladies parodontales, les stomatites, le virus d'*Herpes* labial, les candidoses, ainsi que les cancers buccaux (Sasi et al., 2021). Les huiles essentielles sont ainsi classifiées parmi les composants naturels à fort potentiel biologique. Ce sont une combinaison de composés volatiles produits par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (Ferreira et al., 2021).

Une des merveilleuses plantes antiques, décrite par les populations ancestrales, l'ail « *Allium sativum* L. » fait partie des anciens soins médicaux et son utilisation se poursuit jusqu'à l'heure actuelle (Rivlin, 2001 ; Wang et al., 2011 ; Martins et al., 2016 ; Torpol et al., 2018 ; Kshirsagar et al., 2018). Cette plante qui appartient à la famille des *Amaryllidaceae* est cultivée mondialement (Yasin et al., 2022 ; Lemma et al., 2022). En effet, l'huile essentielle d'ail éprouvé pour son potentiel antibactérien envers les bactéries à Gram positif autant que les bactéries à Gram négatif. Parmi les bactéries mentionnées ; *E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Shigella senteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* spp., *Proteus mirabilis* (Ibrahim, 2017) ainsi qu'antifongique (Bhatwalkar et al., 2021). Nazzaro et ses collaborateurs (2022) ont rapporté que l'activité antimicrobienne de l'ail est principalement due à son majeur composant bioactif « l'allicine » ou « diallyl thiosulfinate » (Ibrahim, 2017 ; Liu et al., 2021). Ce dernier étant instable, il se dégrade facilement en allyl sulfides, allyl disulfides et allyl trisulfides, qui sont les principaux composants de l'huile essentielle d'ail (Karic et al., 2020 ; Hu et al., 2021).

Pour mieux étudier l'effet des huiles essentielles d'ail sur la flore buccale, plusieurs objectifs ont été tracés :

- Isolement et identification des germes buccaux chez les personnes souffrant de caries dentaires
- Etude *in-vitro* de l'antibiorésistance des souches isolées ;
- Extraction de l'huile essentielle d'ail « *Allium sativum* L. » ;
- Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG/MS, CPG/FID ;
- Détermination de l'activité antioxydante ;
- Evaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle vis-à-vis des bactéries multirésistantes et des *Candida albicans* pathogènes.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1 :
Flore buccale

Chapitre 2 :
Antibiorésistance

1. Antibiorésistance

Depuis de longues années et jusqu'à nos jours, la lutte des humains contre une multitude d'agents pathogènes responsables de maladies et d'infections se poursuit (Yap *et al.*, 2014). La découverte des antibiotiques constitue un vrai exploit pour la santé humaine, vu que leur usage thérapeutique a permis de diminuer le taux de mortalité et de morbidité mondiales. Néanmoins, l'usage abusif et anarchique de ces agents antimicrobiens a fait apparaître certaines formes de résistances des souches microbiennes contrebalançant les effets des antibiotiques (Cantón et Morosini, 2011 ; Bouyahya *et al.*, 2017). L'antibiorésistance et son évolution rapide figure parmi les défis les plus importants pour la santé humaine, animale voire même pour l'environnement (White et Hughes, 2019 ; Iskandar *et al.*, 2020). Ces problèmes sont désormais une préoccupation majeure en matière de santé publique mondiale, ce qui justifie le besoin de nouveaux composés antimicrobiens. Cela requiert une connaissance détaillée des différents facteurs biologiques et non biologiques qui affectent la progression des fondements scientifiques de la résistance aux antibiotiques (Yap *et al.*, 2014 ; Holmes *et al.*, 2016). Ces connaissances devraient aller aux mécanismes de résistance, qui permettent de nouvelles méthodes de diagnostic et de thérapies, aux facteurs environnementaux et sociaux pour la création de politiques d'intervention efficaces (Årdal *et al.*, 2016 ; Dar *et al.*, 2016 ; Mendelson *et al.*, 2016).

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec anti : contre, mikros : petit et bios : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des micro-organismes. L'adjectif antibiotique (du grec anti : contre, biotikos : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un micro-organisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voire même de détruire d'autres micro-organismes. Les composés utilisés à des fins thérapeutiques lors des maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont fréquemment appelés, par les professionnels de la santé ainsi que par les profanes, antibiotiques. Pourtant, ce terme est bien souvent utilisé de façon erronée et subit régulièrement un élargissement de son sens. En effet, la définition du mot antibiotique réfère strictement aux substances antimicrobiennes d'origine naturelle et non synthétique (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Muylaert et Mainil, 2012). Ils sont utilisés pour traiter les infections bactériennes depuis la découverte de la pénicilline en 1928 par Alexander Fleming.

Depuis, ils sont les médicaments les plus fréquemment administrés en médecine humaine (Iskandar *et al.*, 2020). Selon les études, ces médicaments sont consommés de manière abusive et excessive (OMS, 2012 ; Holmes *et al.*, 2016).

2. Résistance aux antimicrobiens

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. Ce phénomène se traduit par l'acquisition d'un quelconque micro-organisme ; soit une bactérie, un champignon, un virus ou un parasite, d'une capacité à s'adapter et à prospérer en présence de traitements qui l'affectaient auparavant (**Founou et al., 2017 ; Dadgostar, 2019 ; Abushaheen et al., 2020**). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Plusieurs types d'agents antimicrobiens sont présents, tels que les antibiotiques, les désinfectants et les conservateurs alimentaires, qui peuvent être utilisés contre les micro-organismes afin de réduire leur capacité de croissance, d'inhiber leur multiplication ou même de les détruire (**Abushaheen et al., 2020**). Différents critères peuvent contribuer à l'apparition de ce problème (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in-vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in-vivo*) (**Muylaert et Mainil, 2012**).

La technique la plus utilisée pour la distinction des souches sensibles des autres résistantes est la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), c'est-à-dire la concentration qui bloque la croissance bactérienne. Pour une souche bactérienne isolée et identifiée, il y en a autant qu'il y a d'antibiotiques testés. Les CMI sont obtenues en étudiant la croissance sur 18 à 24 h d'une souche bactérienne dans un milieu liquide ou solide contenant une concentration d'antibiotique définie. Une méthode indirecte, couramment utilisée en diagnostic est basée sur la détermination de diamètre d'inhibition en plaçant une pastille d'antibiotique dans une boîte de Pétri. L'antibiotique diffuse autour de la pastille en formant un halo de concentration décroissante, qui se traduit par un cercle sans bactérie, d'autant plus grand que la CMI est faible (**Sanders, 2013**).

Il existe deux types de mécanismes de la résistance antimicrobienne : résistance naturelle et acquise.

2.1 Résistance naturelle

C'est une résistance innée et intrinsèque. Certains genres (ou espèces) bactériens spécifiques présentent des caractéristiques structurales/fonctionnelles uniques qui les rend résistants à certains antibiotiques et qui se transmettent de génération en génération. Ces groupes de bactéries n'ont normalement pas de site cible ce qui explique l'inefficacité des antibiotiques spécifiques (**Abushaheen et al., 2020**).

Ces mécanismes de résistance sont spontanés et assez constants. L'absence ou la réduction de sensibilité à un antibiotique peut être due à (**Muylaert et Mainil, 2012**) :

1- Un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne (par exemple, la faible affinité de l'acide nalidixique pour la gyrase des entérocoques) ;

2- Une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne (imperméabilité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif aux glycopeptides comme la vancomycine) ;

3- Une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques (résistance aux tétracyclines, au chloramphénicol et aux quinolones chez *Pseudomonas aeruginosa*, ou encore ;

4- Une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (la production d'une bêta-lactamase AmpC chez certains membres de la famille *Enterobacteriaceae*).

2.2 Résistance acquise

Elle est due à des modifications dans le profil d'expression génique via des mutations ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus, les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (**Springman et al., 2009**).

2.3. Mécanismes d'action des antibiotiques (figure 1.11)

Pour comprendre les mécanismes de résistance, il est essentiel de connaître le fonctionnement des agents antimicrobiens de différentes classes. Ceux-ci ciblent spécifiquement les fonctions microbiennes vitales dans le but de tuer/inhiber les bactéries (**Abushaheen et al., 2020**). Les mécanismes d'action des agents antimicrobiens peuvent être classés comme suit.

- Interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire ;
- Inhibition de la synthèse des protéines ;
- Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique ;
- Inhibition des voies métaboliques/enzymes bactériennes ;
- Interruption de la structure de la membrane bactérienne.

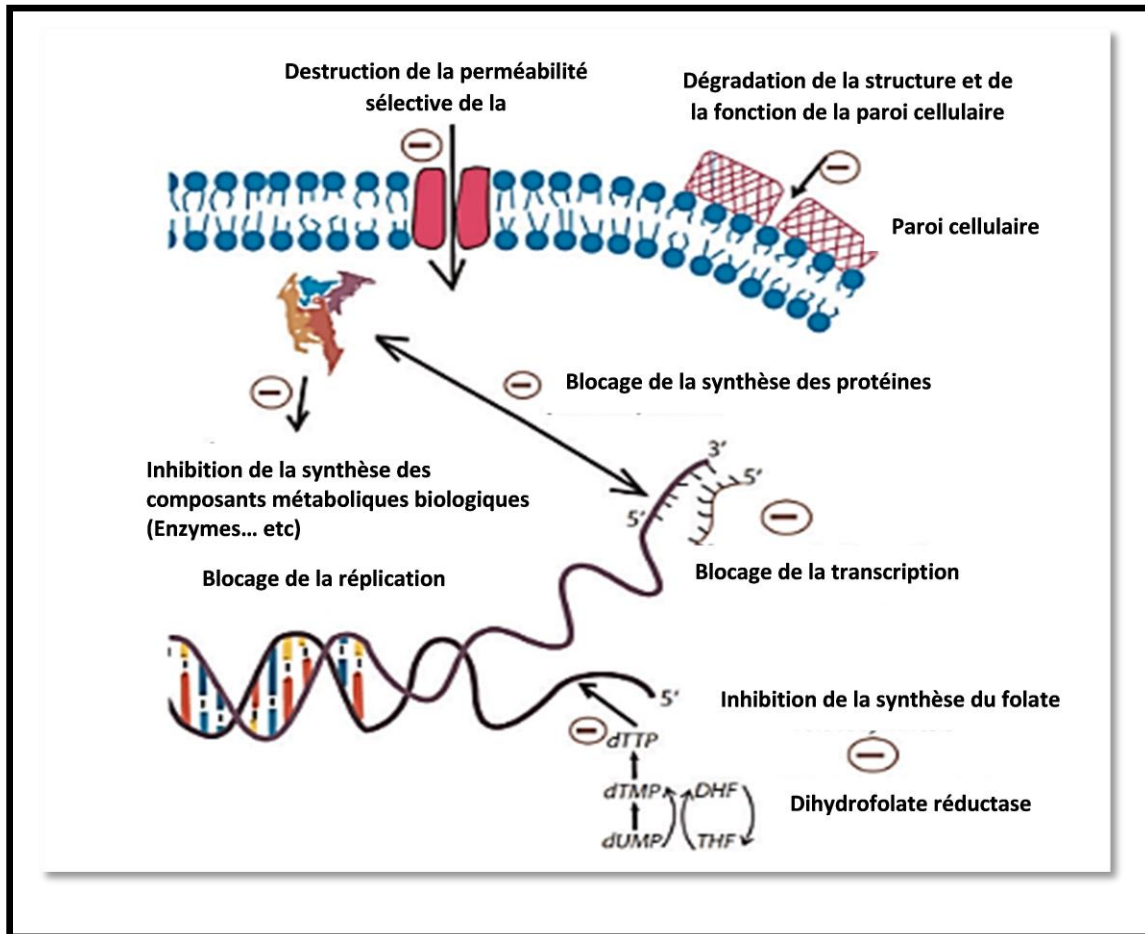


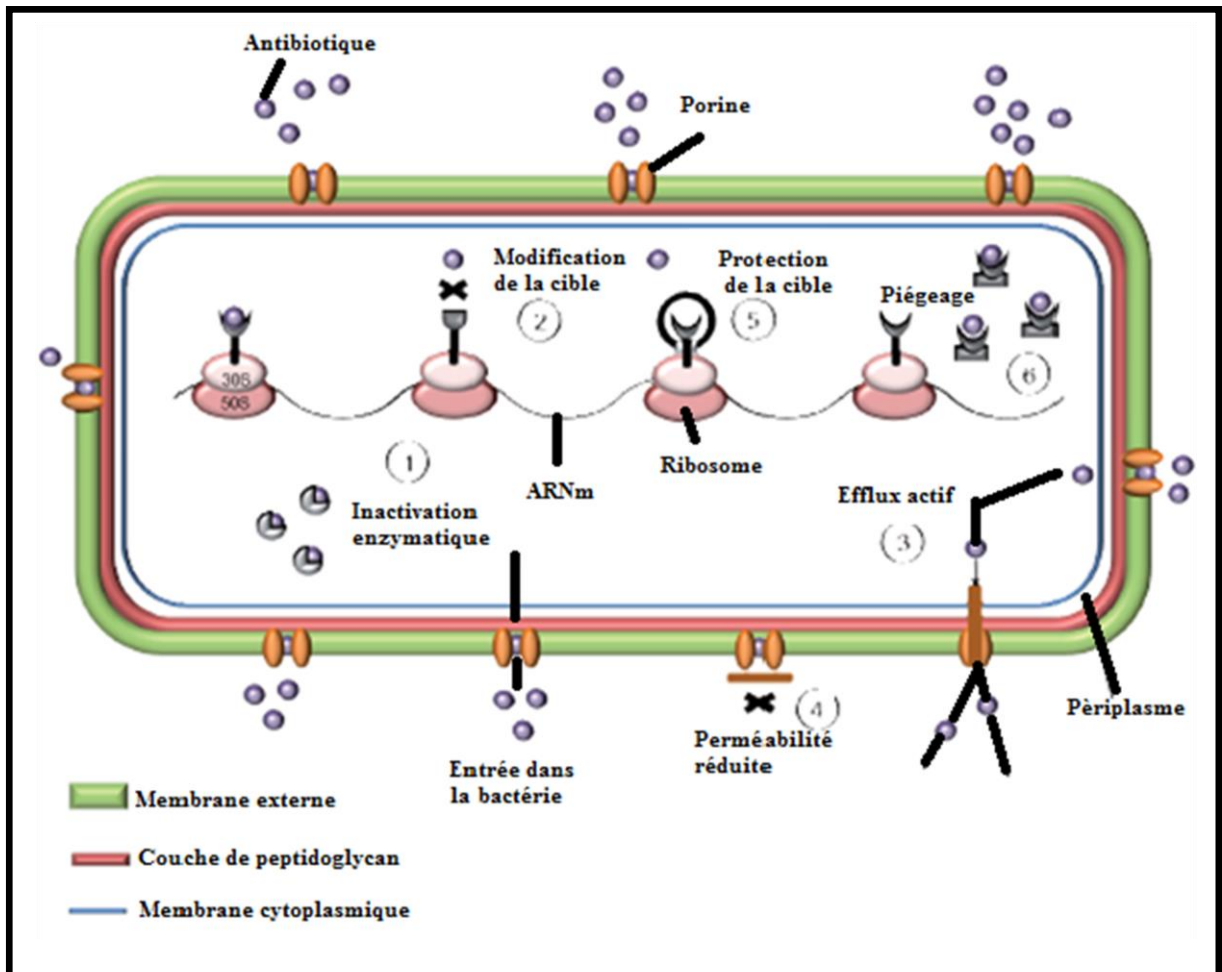
Figure 1.11 : Différents mécanismes d'action des antibiotiques (Kirmusaoglu et al., 2019).

DHF : dihydrofolate ; THF : Tetrahydrofolate ; dTTP : deoxythymidine triphosphate ;
dUMP : deoxyuracile monophosphate, dTMP : deoxythymidine monophosphate.

2.4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Pour lutter contre l'action des antibiotiques, les bactéries ont élaboré plusieurs stratégies. Certaines ciblent directement les antibiotiques tandis que d'autres sont dirigées contre les mécanismes cellulaires, impliqués dans le transport de ces substances (figure 1.12) (Guinoiseau, 2010 ; Muylaert et Mainil, 2012).

Du point de vue physiologique et moléculaire, la résistance bactérienne est la résultante de trois phénomènes : la diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique par diminution de la perméabilité membranaire et/ou suractivation de l'efflux bactérien, l'inactivation des antibiotiques par dégradation ou modification enzymatique et l'altération de leurs cibles cellulaires par modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique ainsi que par piégeage de l'antibiotique (Guinoiseau, 2010).



1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

ARNm : acide ribonucléique messenger

Figure 1.12 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à Gram négatif (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Ce recours excessif et sans discernement aux antibiotiques provoque une pression sélective, ne permettant qu'au génotype le plus adapté de se développer. Bien que l'évolution soit inéluctable, l'usage intensif d'agents antimicrobiens dans la communauté, l'hôpital et l'agriculture est indéniablement responsable d'alimenter cette crise. Aujourd'hui, les bactéries qui sont résistantes non seulement à un seul médicament, mais aussi à plusieurs, se propagent de façon endémique dans la communauté au cours de la dernière décennie (Neu., 1993 ; Cantón et Morosini, 2011). Cela peut entraîner l'échec, l'augmentation des coûts de traitement et du taux de mortalité.

L'usage d'antibiotiques dans l'agriculture est un facteur important de la résistance antimicrobienne chez l'homme (**Chang et al., 2015**), non seulement pour traiter les animaux malades, mais ils sont largement additionnés aux aliments et à l'eau de boisson destinés aux animaux sains à titre prophylactique, de poursuivre la croissance des troupeaux à des niveaux sous-thérapeutiques et d'augmenter l'efficacité alimentaire (**Bartlett et al., 2013 ; Hao et al., 2014 ; Blaser, 2016 ; Dadgostar, 2019**).

Des études actuelles ont suggéré que la modernité et la facilité des moyens de transport pour les personnes, les animaux et les marchandises ont également contribué de manière substantielle à la diffusion de ce phénomène à travers le monde (**Castro-Sánchez et al., 2016**). En étant exposés à des agents pathogènes résistants, les voyageurs humains sont très susceptibles de retourner, de coloniser et de partager l'infection dans leur pays (**Frost et al., 2019**).

La résistance aux antibiotiques peut se produire spontanément par mutation et évolution bactérienne (**Read et Woods, 2014**). En outre, les plasmides, peuvent obtenir une grande variété de gènes de résistance par le biais de transposons et de séquences d'insertion (**Rozwandowicz et al., 2018 ; San Millan, 2018 ; Li et al., 2019**). Ils peuvent être transférés à d'autres espèces bactériennes et propager la résistance aux antibactériens dans la population (**Sun et al., 2019**). En outre, l'échange de facteurs génétiques de résistance entre les bactéries, par transfert horizontal de gènes, accélère encore la propagation de la résistance aux antibiotiques (**Dadgostar, 2019**).

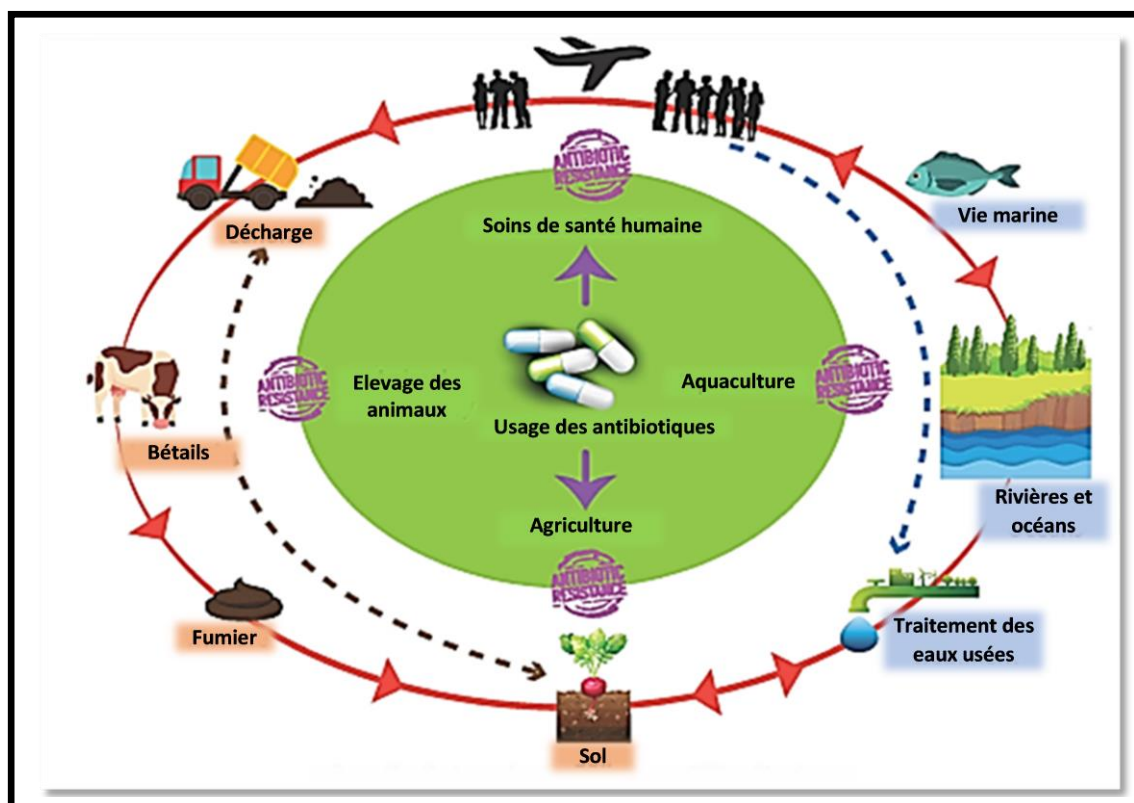


Figure 1.13: L'usage d'antibiotiques favorisant l'apparition d'un plus grand nombre de gènes associés à l'antibiorésistance dans toutes les biosphères (Sukumar et al., 2020).

5. Antibiorésistances des micro-organismes buccaux

L'antibiorésistance au sein du microbiote buccal devient une situation de plus en plus préoccupante, au quelle les recherches ne lui ont pas accordé une grande attention (Donkor et Kotey, 2020). Elle menace l'efficacité des soins de santé, car un nombre croissant d'agents pathogènes deviennent multirésistants ou complètement résistants à tous les types d'antibiotiques actuellement disponibles.

Les prescriptions des dentistes représentent 10% de l'ensemble des antibiotiques prescrits par les professionnels de santé du monde entier (Epstein et Chong, 2000 ; Pallasch, 2003). En tant que professionnels prescripteurs, les dentistes ne doivent pas sous-estimer leur contribution au développement de ce fléau (Sukumar et al., 2020). Selon les preuves scientifiques actuelles, leur utilisation augmente, parfois en l'absence d'indication. Ce qui contribue au grave problème de santé publique que constitue l'antibiorésistance comme dans le cas des céphalosporines et des fluoroquinolones, avec pour conséquence le développement du *Staphylocoque doré* résistant à la méthicilline et à toute une gamme d'antibiotiques (Takasaki et al., 2000).

Une étude menée au Royaume-Uni a révélé que 80 % des antibiotiques utilisés pour traiter des affections dentaires aiguës n'étaient pas nécessaires (**Sukumar et al., 2020**). On estime que d'ici 2050 il pourrait y avoir jusqu'à 10 millions de décès annuels causés par des infections qui auraient pu être facilement guéries avant la résistance, si des mesures adéquates ne sont pas prises à l'échelle mondiale (**De Kraker, 2016 ; Donkor et Kotey, 2020 ; Abdelkarim-Elafifi et al., 2021**).

En l'absence d'infections, les antibiotiques ne sont jamais utilisés pour soulager la douleur ou l'inflammation dentaire. Les dentistes peuvent diagnostiquer et traiter les affections dentaires aiguës lors des consultations urgentes ; l'accès aux soins dentaires, plutôt que médicaux est plus important que les antibiotiques ne peuvent les remplacer. En outre, ce problème croissant des soins fournis dans des environnements non dentaires (tels que les services d'urgence hospitaliers) contribue à la surconsommation d'antibiotiques, car le traitement fourni est rarement définitif (**Buonavoglia et al., 2021**).

Une absence d'antibiotiques pour traiter efficacement une infection buccale ou ailleurs dans le corps (par exemple, une infection des voies respiratoires), ou pour assurer une prophylaxie avant une intervention chirurgicale majeure (par exemple, une arthroplastie) peut constituer un risque vital. Chez les patients souffrant d'infections dentaires, la propagation de l'infection vers les structures vitales de la tête et du cou peut se faire rapidement. Optimiser l'utilisation des antibiotiques en les prescrivant conformément aux lignes directrices permettra d'améliorer les résultats pour tout le monde, en particulier pour les personnes les plus vulnérables (**Sukumar et al., 2020**).

Les avantages potentiels de l'utilisation d'antibiotiques doivent être mis en balance avec le risque d'effets indésirables tels qu'une allergie grave ou une anaphylaxie, une colite liée aux antibiotiques ou une infection à *Clostridium difficile*, ainsi qu'avec le risque de sélection d'une résistance. Des études observationnelles, cliniques et épidémiologiques portant sur des jeunes enfants fournissent de plus en plus de preuves que l'exposition aux antibiotiques est associée à un risque accru de diverses maladies, notamment l'obésité, le diabète de type 1 et 2, la maladie cœliaque, les allergies et l'asthme (**Blaser, 2016**). La prescription d'un médicament sans fondement clinique n'est jamais dans l'intérêt du patient et peut être assimilée à une négligence. Les lignes directrices cliniques sont conçues pour soutenir la prise de décision clinique et, en les suivant, les praticiens peuvent se défendre contre les plaintes dento-légales (**Sukumar et al., 2020**).

Chapitre 3 :
Ail « Allium
sativum L. » et
ses
huiles essentielles

1. Généralités sur la plante médicinale « *Allium sativum* L. »

De nos jours, l'adoption de pratiques alimentaires traditionnelles est très valorisée de nos jours, comme le soulignent **Altuntas et Korukluoglu (2019)**, notamment en ce qui concerne l'utilisation de produits naturels dans le domaine de la santé dentaire (**Saikiran et al., 2018**).

Allium sativum L. communément connu sous le nom de l'ail, a attiré une attention particulière, en raison de son utilisation ancestrale et sa réputation dans le monde entier, dans les croyances basées sur l'efficacité des remèdes à base d'ail pour protéger l'organisme contre diverses maladies en lui donnant plus de vigueur (**Rivlin, 2001**). Par ailleurs, ses bulbes constituent un agent aromatisant important pour de nombreuses spécialités culinaires intercontinentales (**Dehariya et al., 2021 ; Ezeorba et al., 2022**).

1.1. Historique et origine

L'ail (*Allium sativum* L.) occupe une place très importante dans l'histoire gastronomique tout comme dans la médecine populaire, dans les coutumes et les croyances de presque toutes les religions dépassant de loin plus de 5000 ans. Ce genre est mentionné dans la Bible et le Coran (**Lim, 2015**), et dans les anciens manuscrits historiques médicaux égyptiens, babyloniens, grecs, indiens et chinois (**Suru et Ugwu, 2016 ; Kumar et al., 2016**).

Le mot « *Allium* » dérive du mot celtique « al », qui signifie piquant et brûlant, quant à « *sativum* » qui signifie planter, cultiver ou semer (**Omar, 2013**). Le nom anglais « garlic » vient de l'anglo-saxon « gar-leac ou spear plant », qui se réfère à sa tige fleurie. Originaire du continent asiatique, l'ail a été repéré dans d'autres régions du monde tel que les zones méditerranéennes et caucasiennes (**Lim, 2015 ; Habtemariam, 2019 ; Sasi et al., 2021**).

Depuis longtemps, l'ail était le traitement d'une série de maladies allant des infections bactériennes, aux maladies cardiovasculaires. Ces propriétés thérapeutiques ont été illustrées dans la revue de **Petrovska et Cekovska (2010)** avec des noms populaires qui lui ont été attribués, notamment la « pénicilline russe, l'antibiotique naturel, le viagra végétal, le talisman végétal, le thériaque rustique, l'herbe aux serpents ».

En 1550 avant J-C, les antibiotiques et les produits pharmaceutiques n'existaient plus, la raison pour laquelle l'ail furent le traitement de différentes épidémies tels que le typhus, la dysenterie, le choléra, et l'influenza (**Petrovska et Cekovska, 2010 ; Ansary et al., 2020**). En outre, des dessins d'ail ont été retrouvés 3700 ans avant J-C, dans des tombeaux égyptiens. A cette époque, l'ail avait une valeur commerciale si élevée et était même considéré comme une ressource d'échange précieuse. Les égyptiens antiques le donnaient en nourriture à la classe ouvrière impliquée dans les travaux lourds lors de la construction des pyramides. Les grecs,

l'utilisaient comme "améliorateurs de performance" dans les compétitions d'athlétisme et les jeux olympiques, tandis que les romains, l'utilisaient pour purifier les artères, leurs ouvriers et leurs soldats le mâchaient avant la bataille. Quant aux slaves, ils l'utilisaient pour se protéger des morsures de serpent, de même pour les indiens qui le consommaient pour traiter l'arthrite et les maladies cardiaques (Sasi et al., 2021).

En Afrique, les pêcheurs s'enduisent le corps d'un extrait d'ail pour se protéger des crocodiles. Également, en Europe, on croyait que l'ail était capable d'éloigner les vampires, les démons, les mauvais esprits avec d'autres propriétés magiques (Lim, 2015).

Actuellement, l'ail reste un des remèdes naturels très populaires, et qui prend plus d'importance dans les préparations de suppléments alimentaires à l'échelle industrielle.

1.2. Dénominations vernaculaires

Nom Arabe : thoum, ثوم ;

Français : ail commun, ail cultivé, thériaque des pauvres, ail de printemps ;

Anglais: garlic, common garlic;

Allemand: Knoblauch, Knobloch, Knobl, Echter Knoblauch;

Espagnol : ajo, ajo comun, ajo vulgar ;

Italien : aglio, aglio comune (Goetz et Ghedira, 2012).



Figure 1.14: Bulbes d'ail frais pour usage culinaire/ aromatisant ou médicinal (Block, 2010 ; Habtemariam, 2019).

1.3. Classification botanique

Le tableau suivant représente la situation botanique de l'espèce *Allium sativum* L.

Tableau 1.2 : Classification botanique d'ail « *Allium sativum* L. » (Goetz et Ghedira, 2012 ; Sasi et al., 2021).

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Tracheobiota</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (=Phanérogrames)
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i> (=Angiospermes)
Classe	<i>Liliopsida</i>
Sous-classe	<i>Liliidae</i>
Ordre	<i>Liliales</i> (Asparagales)
Famille	<i>Amaryllidaceae</i>
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>A. sativum</i> L.

1.4. Description botanique

Le genre *Allium* comprend environ 500 espèces, dont les oignons comestibles (*A. cepa*), les ails (*A. sativum*), les échalotes (*A. ascalonicum*), la ciboulette (*A. schoenoprasum*) et les poireaux (*A. porrum*) (Nicastro et al., 2015). L'ail est une plante monocotylédone, appartenant à la famille des amaryllidacées, herbacée, vivace, produite annuellement, et pouvant atteindre 0,9-1,2 m d' hauteur (Goetz et Ghedira., 2012 ; Morales-González et al., 2019 ; El-Saber Batiha et al., 2020). Le bulbe formé de caïeux (4 à 20 gousses) est la partie la plus importante de la plante qui tend à des fins alimentaires ou médicinales, par ailleurs chaque gousse donne naissance à un bulbe complet servant donc à la propagation asexuée de la plante qui est le principal moyen de culture. A l'égard de la longue histoire d'utilisation par l'homme, l'existence de différentes variétés génotypiques n'est pas surprenante, cela donne lieu à des variations dans la composition chimique, en plus des influences environnementales habituelles. Le consensus actuel est d'avoir des sous-espèces d'ail qui peuvent être différenciées sur la base de certaines caractéristiques morphologiques. Grâce à la disponibilité de diverses variétés, il existe des cultivars qui conviennent à la fois aux conditions climatiques les plus froides et les plus chaudes, ce qui permet la production mondiale d'ail (Habtemariam, 2019).

1.5. Composition chimique

Les espèces du genre *Allium* renferment plusieurs nutriments et partagent approximativement la même composition notamment les macromolécules. La composition d'ail varie en concordance avec la localisation géographique, la phase de récolte et les pratiques agricoles. L'ail possède un profil nutritionnel lui valant d'être considéré comme un véritable allié santé en se référant à sa composition dominante par les composés organo-sulfurés (Nicastro et al., 2015). Les recherches scientifiques précédentes décrivent que les gousses d'ail contiennent environ 65% d'eau, et 30% de glucides, avec la présence de minéraux et d'oligo-éléments y compris les vitamines. De même, il s'avère être une source d'acides aminés essentiels (Omar, 2013 ; Marchese et al., 2016 ; Vickers, 2017 ; Ezeorba et al., 2022). En plus des composants bioactifs primaires qui ont attiré plus d'attention ces dernières années, en particulier les polysaccharides de réserves, les différents composés antioxydants, les composés de l'ail les plus intéressants sont, de loin, les composants soufrés volatils et non volatils responsables de sa forte saveur et ses nombreux effets médicaux (Milner, 2001 ; Ansary et al., 2020 ; Ezeorba et al., 2022).

L'alliine (S-allyl-L-cystéine sulfoxyde) correspond au composé majoritairement présent dans l'ail cru et qui subit une série de réactions enzymatiques pour donner un ensemble de composés soufrés tels que les thiosulfonates, les sulfures d'allyle, les dithiines et les ajoènes. Les bulbes d'ail crus contiennent une grande quantité de γ -glutamyl-cystéine précurseur de l'alliine conservé à basse température sous forme intacte. La formation de l'alliine se fait naturellement sous l'action d'enzymes telles que les peptidases et les γ -glutamyl transpeptidases libérées dans les tissus endommagés, ce qui déclenche la dégradation des dérivés γ -glutamyl. Ensuite, l'enzyme dite alliinase décompose l'alliine pour créer des thiosulfonates comme l'allicine de même après avoir subi toute opération perturbant la membrane cellulaire de manière très instantanée, tandis que la γ -glutamyl-cystéine est simultanément convertie en SAC par un mécanisme différent. L'allicine étant un composé instable ne peut être décelé dans les préparations à base d'ail transformé. Il se convertit en sulfure de diallyle (DAS), en disulfure de diallyle (DADS), en trisulfure de diallyle (DATS), en dithiines et en ajoène (Habtemariam, 2019 ; Verma et al., 2023).

L'allicine, fut isolée chimiquement dans les années 1940, c'est le responsable des effets antimicrobiens contre de nombreux virus, bactéries, champignons et parasites (Majewski, 2014).

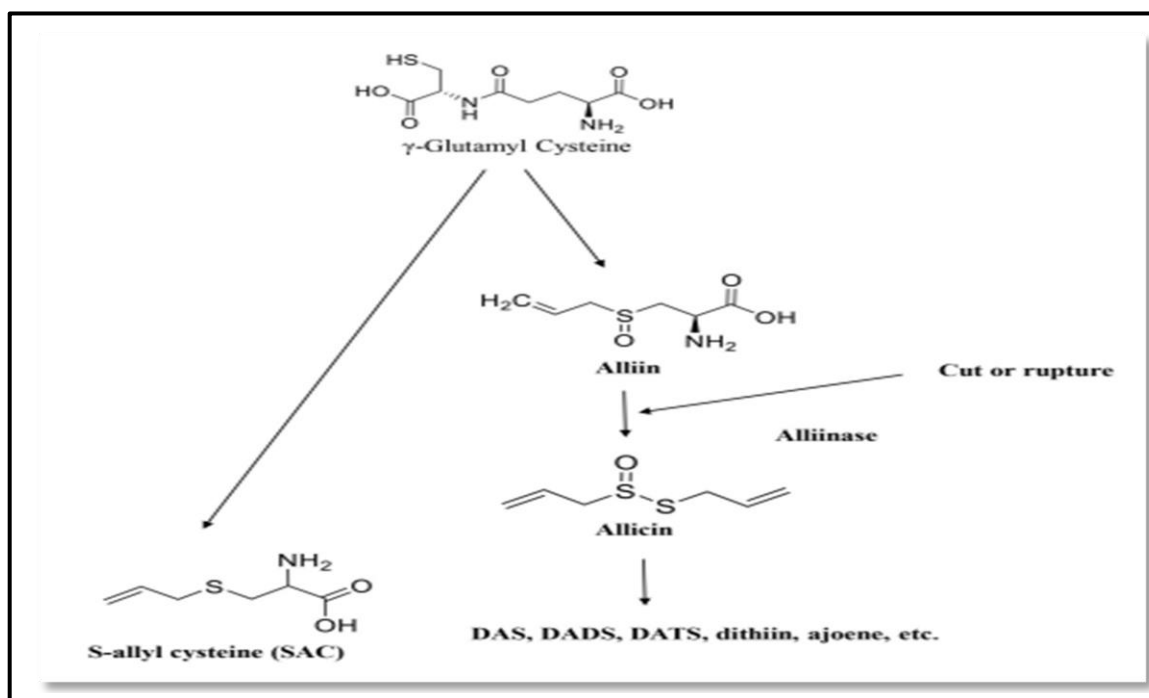


Figure 1.15 : Composants bioactifs produits lors de la transformation de l’ail (Verma *et al.*, 2023).

2. Huile essentielle

L’antibiothérapie est l’outil fondamental de traitement des maladies infectieuses, où l’usage généralisé et parfois inadapté peut entraîner le développement de souches bactériennes multi-résistantes. Face à ce problème, et en vue de limiter l’émergence de ce phénomène, l’orientation de la recherche vers de nouvelles sources de molécules alternatives douées d’activité antimicrobienne sera un besoin nécessaire (Haddouchi et Benmansour, 2008 ; Khadri *et al.*, 2010).

Les plantes médicinales sont capables de synthétiser naturellement des métabolites secondaires, parmi eux, les huiles essentielles qui sont des substances volatiles à forte odeur caractéristique, qui commencent à susciter un grand intérêt en tant que source potentielle de biomolécules naturelles actives notamment dans le domaine pharmaceutique (Bouhdid *et al.*, 2006).

Avant d’entamer l’étude chimique et biologique de l’huile essentielle d’ail, il nous a paru indispensable de se rappeler des propriétés des huiles essentielles.

2.1. Définition

Une huile essentielle est définie par ISO et AFNOR comme étant « un produit obtenu à partir d’une matière première d’origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d’eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l’épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation.

L'huile obtenue est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (ISO, 1997 ; AFNOR, 2000 ; Turek et Stintzinf, 2013 ; Ríos, 2016).

Une huile essentielle détermine selon la 7^{ème} édition de la Pharmacopée européenne, « un liquide aromatique, huileux, généralement de composition complexe, extrait d'une matière végétale aromatique botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par une méthode mécanique appropriée sans chauffage (El Asbahani et al., 2015).

2.2. Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés organiques naturels, très volatiles et peu visqueuses, avec une forte odeur caractéristique, produites par des plantes dites aromatiques en tant que métabolites secondaires. Elles sont le plus souvent incolores (Dehariya et al., 2021 ; Ezeorba et al., 2022), et leurs rendements d'extraction varient en fonction des plantes et des organes utilisés (El Asbahani et al., 2015).

Les HEs sont :

- Instables et fragiles ce qui les oppose aux « huiles végétales ». Par conséquent, elles peuvent être dégradées aisément (par oxydation, volatilisation, chauffage, lumière) si elles ne sont pas protégées contre les facteurs extérieurs (Hong et Park, 1999 ; Couic-Marinier, 2013).
- Solubles dans les huiles grasses (qui constituent un très bon véhicule en cas de dilution), ainsi que dans la plupart des solvants organiques tels que le benzène, le toluène, l'acétone, l'éthanol et le méthanol (Hassan et Mujtaba, 2019).
- Leur densité est généralement inférieure à 1, et sont susceptibles de provoquer des irritations, voire des brûlures cutanées.
- Les huiles essentielles ont un indice de réfraction et un pouvoir rotatoire élevés, ce qui pourrait être intéressant pour leur identification et le contrôle de leur qualité (Ríos, 2016).

2.3. Composition chimique

Les HEs sont caractérisées par deux ou trois composants principaux à des concentrations assez élevées (20-80%) par rapport à d'autres composants présents à l'état de traces (Bakkali et al., 2008). Principalement des terpènes (oxygénés ou non (C₁₀)), dont les monoterpènes et les sesquiterpènes, les phénols et les alcools (De Lavour, 2018 ; Bicchi et al., 2018 ; Bakkali et al., 2008 ; Miguel, 2010 ; Chouhan et al., 2017). Cependant, les structures allyliques et les propénylphénols (phénylpropanoïdes) constituent également le profil phytochimique de certaines HE (De Lavour, 2018 ; Bicchi et al., 2018 ; Bakkali et al., 2008 ; Miguel, 2010).

Selon Amorati et al. (2013) l'empreinte chimique des HEs est principalement composée de terpénoïdes et phénylpropanoïdes.

2.3.1 Terpénoïdes

Les terpénoïdes, sont les métabolites majeurs des huiles essentielles, qui leurs confèrent une grande saveur, et une odeur forte et piquante (**Ludwiczuk et al., 2017**), ils sont de même connus sous le nom d'isoprénoïdes. Ce sont des hydrocarbures chimiques produits à partir d'unités d'isoprène à 5 carbones (C_5H_8). À partir desquelles, de nombreuses molécules peuvent être construites en biosynthèse, qu'il s'agisse de produits chimiques à chaîne linéaire ou de molécules comportant un ou plusieurs cycles (**De Groot et Schmidt, 2016**). D'un point de vue chimique, les composés terpéniques peuvent être divisés en deux classes, les monos et les sesqui-terpénoïdes, qui se diffèrent par leur point d'ébullition (**De Groot et Schmidt, 2016**).

Les monoterpènes possèdent 10 atomes de carbone et sont construits à partir de 2 unités isoprènes ($C_{10}H_{16}$), qui peuvent former différents squelettes carbonés. Il en existe 3 formes : linéaire (acycliques), monocyclique et bicyclique ((**De Groot et Schmidt, 2016**).

Les sesquiterpènes possèdent quant à eux 15 atomes de carbone ; ils sont construits à partir de 3 unités isoprènes ($C_{15}H_{24}$) et peuvent se présenter sous forme acyclique, monocyclique, bicyclique et tricyclique. La modification chimique des terpènes et des sesquiterpènes, par réarrangement des squelettes carbonés ou par oxydation, produit des composés généralement appelés terpénoïdes. Les produits d'oxydation sont les plus importants, créant des sous-groupes tels que les alcools, les aldéhydes, les phénols, les éthers et les cétones. Plus rarement, au cours de la biosynthèse, des groupes fonctionnels comme le soufre ou l'azote sont liés ou intégrés au squelette carboné (**De Groot et Schmidt, 2016**).

L'isomérisation est fréquente parmi les terpénoïdes, et des paires de formes isomériques peuvent être isolées à partir de plantes. Les isomères sont des molécules qui ont la même formule empirique, mais qui diffèrent par leur liaison atomique ou leur disposition dans l'espace. Il existe cinq formes principales d'isomérisation : structurelle, positionnelle, géométrique, conformationnelle et stéréoisomère (**Ludwiczuk et al., 2017**).

2.3.2 Composés phénoliques (phénylpropanoïdes)

Les phénylpropanoïdes (PPs) constituent l'une des familles fréquentes des métabolites secondaires dans le règne végétal, notamment dans les HEs, pour se défendre contre les infections, les rayons ultraviolets, les blessures et les herbivores (**Sá et al., 2014**). Comme les PPs sont des composés aromatiques au sens chimique du terme (électrons délocalisés, groupe benzénique) qui sont classés en fonction de leur caractère d'oxydation (fixation d'atomes relativement électro-négatifs) (**Sadgrove et al., 2022**).

Les phénylpropanoïdes sont produites à partir de l'acide aminé aromatique phénylalanine et du tyrosine dérivé de la voie shikimate (**Gounaris, 2010 ; Vogt, 2010 ; Sadgrove et al., 2022**). La réduction du groupe acide carboxylique présent dans l'acide

cinnamique produit un aldéhyde (par exemple, le cinnamaldéhyde) et une réduction supplémentaire produit des monolignols tels que les phénylpropènes (par exemple, l'eugénol et le safrol) (Sá et al., 2014).

Ce groupe comprend les alcools, les phénols, les aldéhydes, les variantes méthoxy et méthylènedioxy (Sadgrove et al., 2022).

2.3.3 Composés d'origines diverses

D'autres composés volatils peuvent également être présents dans une HE en particulier celle obtenue par d'autres procédés que la distillation, tels que l'enfleurage, l'extraction par solvants ou le pressage, des composés non volatils peuvent être présents. Dans de nombreux cas, il s'agit de précurseurs de dérivés connus, tels que les lactones ou les glycosides sesquiterpéniques, qui dans certains cas, sont hydrolysés ou transformés en composés volatils au cours du processus de distillation, par exemple : la furanocoumarine dans l'HE de bergamote (*Citrus bergamia*), qui contient souvent du bergaptène, le sinalboside (glucosinolate) de la moutarde blanche (*Brassica alba*) (Ríos, 2016).

2.4. Méthodes d'extraction

Le choix d'une méthode d'extraction adéquate amène à avoir une HE de qualité. Tout au contraire, les procédés inappropriés peuvent altérer ou modifier sa nature chimique. Beaucoup de produits naturels sont instables thermiquement et risquent d'être rapidement endommagés lors de l'extraction thermique. La méthode d'extraction dépend du composé recherché et de l'emplacement des huiles dans la structure végétative de l'espèce étudiée (Singh et al., 2008 ; Mugao et al., 2020).

Les principales méthodes d'extraction utilisées sont l'hydrodistillation (HD), la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, la macération, et le pressage. Parmi ces méthodes, l'HD restant l'approche la plus courante (Stahl-Biskup et Sàez, 2002).

De nouvelles approches ont été développées en vue d'améliorer le rendement de l'extraction, ainsi qu'à réduire ses coûts, tels que l'extraction assistée par micro-ondes (Wang et al., 2010 ; Djouahri et al., 2013), l'extraction par fluide supercritique (Li et al., 2009), et celle assistée par ultrasons (Porto et Decorti, 2009).

2.5. Méthodes d'analyse

Il existe plusieurs types d'analyse chimique qui ont pour objet l'identification qualitative et quantitative des différents constituants d'une HE, parmi lesquelles (CPG, GC/MS, CG/FTIR, RMN, HPLC, IR, etc). La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la technique la plus utilisée pour ce type d'analyse.

Elle peut être couplée à différents types de détecteurs y compris le détecteur de masse (SM), le détecteur à ionisation de flamme (FID), et de plus en plus le détecteur infrarouge à transformateur de Fourier (FTIR). La CPG est utilisée pour l'analyse quantitative, en revanche, la CG/MS pour l'analyse qualitative (**Waseem et Low, 2014**).

2.6. Domaines d'application

Au cours de ces dernières années, les consommateurs ont développé un intérêt croissant pour les produits naturels en tant qu'alternatifs aux additifs artificiels ou aux agents pharmacologiques. Les HEs représentent un outil thérapeutique très efficace permettant d'élargir le champ des traitements médicaux conventionnels. Elles sont utilisées pour leurs merveilleuses propriétés biologiques incluant leurs effets sur les humains, les animaux, les plantes, les insectes et les micro-organismes (**Turek et Stintzinf, 2013 ; Tongnuanchan et Benjakul, 2014 ; Herrera et al., 2021**). Leurs utilisations dans l'industrie des cosmétiques, des savons, des détergents et des parfums présentent un grand intérêt d'un point de vue économique (**Ríos, 2016**).

Les HEs sont utilisées en pharmacie pour leur potentiel médical (**Harris, 2010 ; Lis-Balchin, 2010**). C'est notamment le cas des huiles d'*Eucalyptus* qui sont utilisées comme expectorant pour traiter la toux et la bronchite, l'huile de clou de girofle est utilisée en dentisterie pour ses propriétés antiseptiques et analgésiques ...etc (**Buchbauer, 2010**).

En effet, l'aromathérapie pourrait être la principale application des HEs en tant qu'agents médicinaux. L'administration des HEs obtenues à partir de différentes sources se fait par le biais d'une variété de méthodes d'application. Le terme "aromathérapie" a été créé par Gattefossé dans les années 1920 et a été relancé par Maury dans les années 1960. Depuis les années 1980, sa popularité, n'a cessé de croître. Actuellement, elle est assez bien implantée dans les pays développés (**Lis-Balchin, 2010 ; Boehm et al., 2012**).

En plus de leur utilisation répandue en tant qu'arômes, les huiles essentielles représentent une alternative "verte" à l'utilisation de produits chimiques dans les domaines nutritionnel, pharmacologique et agricole en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, antivirales, nématocides, antifongiques, insecticides et antioxydantes (**Attokaran, 2011**).

2.7 Activité biologique

2.7.1 Activité antimicrobienne

- Mode d'action antibactérien

Depuis longtemps et jusqu'à nos jours, les HEs sont connus et prouvés avoir une efficacité antimicrobienne voire même à de très faibles concentrations (**Mutlu-Ingok et al., 2020**). Cela est dû à la présence de plusieurs molécules douées de propriétés antibactériennes et antifongiques en particulier les phénols (tels que le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que

le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde) (Bessah et Benyoussef, 2015 ; Mugao et al., 2020).

Les facteurs déterminant l'activité des huiles essentielles sont la composition, les groupes fonctionnels présents dans les composants actifs et leurs interactions synergiques (Chouhan et al., 2017). En effet, le mécanisme d'action antimicrobien varie en fonction du type d'HE ou bien de la souche microbienne utilisée.

Plusieurs rapports ont montré que les composants bioactifs s'intègrent dans la bicouche phospholipidique de la membrane et perturbe son métabolisme (Bajpai, 2013 ; Calo et al., 2015 ; Khorshidian et al., 2018) ; par conséquent, la perte des contenus intracellulaires vitaux tels que les protéines, les sucres réducteurs, l'ATP et l'ADN, tout en inhibant la production d'énergie (ATP) et les enzymes connexes, ce qui conduit à la destruction de la cellule et à la fuite d'électrolytes (Bajpai, 2012 ; Guinoiseau, 2010 ; Mutlu-Ingok et al., 2020).

Certains composés modulent la résistance aux médicaments en ciblant les mécanismes d'efflux dans plusieurs espèces de bactéries à Gram-négatif (Devi et al., 2010). L'activité antimicrobienne des HEs est donc attribuée à une cascade de réactions impliquant l'ensemble du système cellulaire.

D'autres parts, Il est bien connu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux HEs (Tariq et al., 2019). Cela peut être attribué au fait qu'elles possèdent une membrane externe rigide, riche en lipopolysaccharide (LPS) et plus complexe, ce qui limite la diffusion des composés hydrophobes à travers elle, alors qu'elle est absente chez les bactéries à Gram positif qui, au contraire, sont entourées d'une épaisse paroi de peptidoglycane pas assez dense pour résister aux petites molécules antimicrobiennes, ce qui facilite l'accès à la membrane cellulaire (Hyldgaard et al., 2012 ; Bhavaniramya et al., 2019). En outre, les souches cliniques et les souches standards peuvent également différer en termes de sensibilité aux HEs (Hyldgaard et al., 2012 ; Mutlu-Ingok et al., 2020).

Les effets antibactériens des huiles essentielles se déroulent selon deux modalités : soit en empêchant la croissance bactérienne (bactériostatique), soit en les tuant (bactéricide) (Tariq et al., 2019). Plusieurs tests biologiques bien connus et couramment utilisés peuvent déterminer ces activités : les méthodes de diffusion sur gélose/disque, de micro/macro dilution en bouillon et de dilution sur gélose (Balouiri et al., 2016).

- Mode d'action antifongique

Bien que l'effet antibactérien des HEs ait fait l'objet de plusieurs études depuis de nombreuses années, le nombre n'a pas encore atteint des niveaux suffisants vis-à-vis de l'effet antifongique. Ce sujet a été largement débattu et plusieurs approches ont été présentées (Mugao et al., 2020 ; De Medeiros et al., 2016). En plus, l'augmentation des cas d'infections fongiques

au cours des dernières années et la contamination des denrées alimentaires et des produits d'alimentation animale par des mycotoxines sont des problèmes considérables pour les consommateurs et les producteurs.

Ces agents antifongiques perturbent la perméabilité de la membrane cellulaire fongique par l'inhibition de la production d'ergostérol. Des recherches antérieures ont confirmé que les effets inhibiteurs des HEs sur de nombreux champignons étaient attribués aux composants à faible poids moléculaire et aux caractéristiques hautement lipophiles, qui ont un effet inhibiteur sur les champignons, et peuvent facilement perturber la membrane cellulaire et entraîner une fuite du cytoplasme (Chao et al., 2005 ; Hu et al., 2019).

Carson et al. (2006) ont montré qu'en présence d'HE d'arbre à thé, une forte perméabilité membranaire et une interférence sur l'activité de la chaîne respiratoire entraînaient la mort des cellules de *Candida albicans* (Carson et al., 2006 ; Armstrong, 2010).

En outre, Soylyu et al. (2006) ont observé des altérations de la membrane plasmique, du cytoplasme et du noyau en analysant au microscope électronique à balayage et à transmission des échantillons de *Phytophthora infestans* traités avec des HEs (Soylyu et al., 2006 ; Hu et al., 2019). Également, une autre étude a montré que l'HE d'*Allium sativum* L. possède une activité antifongique significative contre *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Rhizopus microsporus* (Arasu et al., 2019). Bedoya-Serna et al. (2019) ont confirmé les excellents effets antifongiques *in-vitro* et *in-vivo* (l'huile essentielle) de l'origan (*Origanum vulgare*) sur trois champignons *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. et *Penicillium* spp. isolés du fromage (Bedoya-Serna et al., 2019 ; Hu et al., 2019).

2.7.2. Activité antioxydante

Les HEs sont exploitées dans la lutte contre le stress oxydatif qui est défini comme un déséquilibre entre la production excessive de molécules oxydantes et/ou une diminution du taux d'antioxydants dans l'organisme. Ce phénomène qui est impliqué dans l'apparition de certaines maladies dégénératives comme les cancers, la cataracte, les accidents vasculaires cérébraux, la polyarthrite, l'arthrose, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Rezaie et al., 2007).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est une propriété biologique intéressante pouvant être mise à profit comme palliatif à l'effet délétère de ces antioxydants de synthèse (Maestri et al., 2006).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuée à plusieurs constituants autres que les composés phénoliques comme certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes (Bessah et Benyoussef, 2015). Les terpènes, les allyls et les propénylphénols associés à des antioxydants puissants, des piègeurs de radicaux libres et des chélateurs de métaux, présentant également des propriétés antinociceptives, neuroprotectrices,

anticonvulsivantes et anti-inflammatoires, rapportées dans des études précliniques, ce qui en fait une source potentielle pour le développement de nouveaux médicaments (De Lavor et al., 2018).

2.7.3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un phénomène physiologique qui se déclenche comme étant une voie de défense ordinaire de l'organisme suite à une lésion tissulaire, un stress ou une infection afin de rétablir l'homéostasie tissulaire. Cependant, l'auto-dommagement causé par l'inflammation est inévitable, et leur non-réparation conduit à des conditions pathologiques (Schmid-Schönbein, 2006 ; Ashley et al., 2012 ; Borges et al., 2018). L'inflammation est présente chez les patients souffrant d'infections microbiennes, ou parasitaires ; en cas d'anaphylaxie, dans l'arthrite rhumatoïde, la goutte, les maladies auto-immunes, les maladies intestinales, et le diabète. Il est également devenu évident actuellement qu'un nombre plus important de maladies présente des signes cellulaires et moléculaires révélateurs d'une inflammation. Il s'agit notamment des maladies d'Alzheimer, d'hypertension et le cancer (Schmid-Schönbein, 2006).

Les composés anti-inflammatoires actifs des HEs agissent comme inhibiteurs de la libération de l'histamine ou comme réducteurs de la production de tout médiateur de l'inflammation. Les activités anti-inflammatoires des HEs ne sont pas seulement dues leurs activités antioxydantes, mais aussi à leurs interactions avec une série de cascades de signalisation (y compris les facteurs de transcription régulateurs et les cytokines) et à l'expression des gènes pro-inflammatoires (Hanif et al., 2019).

3. Effet des Huiles essentielles d'ail

L'ail est l'un des produits qui a fait l'objet d'un grand nombre de recherches vis-à-vis de son potentiel sur la santé (Tsai et al., 2012). Son huile essentielle est utilisée dans de nombreux produits à usage médical. Elle peut être obtenue par distillation à la vapeur d'eau, donnant un rendement de 0,09-0,35% (Santhosha et al., 2013 ; Leyva et al., 2016 ; Satyal et al., 2017).

Les constituants actifs notamment les composés sulfurés, principalement le disulfure de diallyle, suivis du sulfure de diallyle, trisulfure de diallyle, trisulfure d'allylméthyle et du tétrasulfure de diallyle, dégagent une forte odeur caractéristique (Casella et al., 2013). La quantité et le nombre de constituants des HEs varient, mais dans toutes les études rapportées, les composés cités auparavant sont les principaux ingrédients retrouvés dans les HEs d'ail étudiées (Gong et al., 2021). Ces substances sont le fruit de la transformation de l'allicine avec une valeur médicinale significative car elle a un effet biologique large.

Le seul inconvénient est la difficulté de stabilisation de l'alicine par rapport aux autres thiosulfates qui est produite par l'action de l'enzyme allinase après endommagement de ces tissus (Yoshimoto et Saito, 2019 ; Rauf *et al.*, 2022).

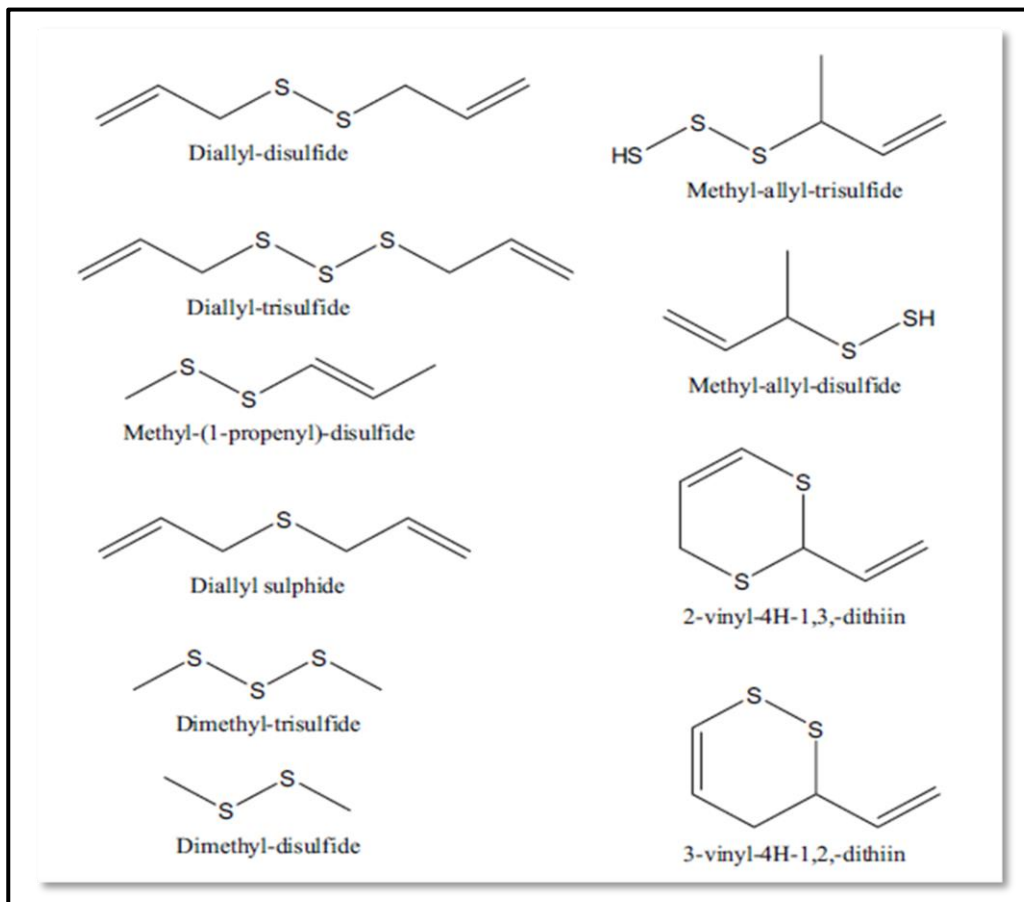


Figure 1.16 : Principaux composants de l'huile essentielle d'*Allium sativum* L. (Leyva *et al.*, 2016).

Plusieurs études ont rapporté la relation de divers composant organosulfurés vis-à-vis de l'efficacité biologique de l'HE d'*A. sativum* sur la santé humaine. L'étude de **Yang et ses collaborateurs (2018)** a prouvé les effets hypolipidémiques de l'HE d'ail sur la réduction du poids corporel et la réduction du mauvais cholestérol (LDL). L'étude a été réalisée *in-vivo* sur un modèle de rongeurs obèses. Également, l'étude de **Asdaq *et al.* (2022)** conclue que les essais faites sur l'HE et son principal composant actif « le disulfure de diallyle » ont montré tous deux la capacité de réduire le stress oxydatif induit par l'hyperlipidémie. L'HE d'ail et le DADS, se sont révélés être efficaces vis-à-vis de la dyslipidémie, ils neutralisent les radicaux libres causés par un régime riche en graisses. Ces observations montrent qu'en plus du DADS et de l'HE, d'autres éléments sont responsables des propriétés synergiques antihyperlipidémiques et antioxydantes.

L'huile d'ail a autant d'activités antimicrobiennes, il délimitait la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (Guo, 2014). Pareille, pour l'ensemble d'isolats cliniques étudiées dans l'étude de Benmezziane et al. (2018) ; de « *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* » ; ces souches sont résistantes aux antibiotiques, mais montrent une sensibilité envers l'HE et l'extrait d'ail des deux variétés d'ail étudiées. Par ailleurs, l'HE d'*A. sativum* inhibait le champignon *Penicillium funiculosum*, éventuellement par destruction de la structure cellulaire et qui mène à la fuite du cytoplasme et des macromolécules (Li et al., 2014). En outre, Elle perturbe le métabolisme normal de *Candida albicans*, ce qui est associé à l'induction de gènes clés impliqués dans la phosphorylation oxydative, le cycle cellulaire et le traitement des protéines dans le réticulum endoplasmique (Li et al., 2016). Également, l'HE d'ail possède un effet fongistatique envers trois souches de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*) (Mirabadi et al., 2019).

3.1.Efficacité de l'huile essentielle d'ail sur la santé orale humaine

La carie dentaire, les maladies parodontales, la pulpite dentaire, la stomatite aphteuse récurrente, l'herpès labiale, les lésions précancéreuses, la fibrose sous-muqueuse dentaire, les candidoses orales et l'halitoses sont les pathologies communes et fréquentes de la cavité buccales engendrées par les pratiques d'hygiène et le mode de vie inadéquat (El-Saber Batiha et al., 2020).

L'ail est une source de fibres prébiotiques, ce qui le rend utile pour la santé dentaire et gastrique. Ses propriétés antifongiques et antivirales peuvent contribuer à prévenir certaines maladies courantes tels que les caries, les maladies des gencives et le cancer de la bouche en prenant en considération la contribution de la santé bucco-dentaire au bien-être général, par exemple, les maladies parodontales sont associées à un risque accru de maladies cardiovasculaires, de naissance prématurée, et de maladies respiratoires (Migliorati et Madrid, 2007 ; Shooriabi, 2021).

L'efficacité de l'huile essentielle de l'ail est prouvée par un nombre de recherches scientifiques qui seront discutées comme suit :

L'ail peut être efficace pour soulager la douleur dentaire grâce à l'allicine, un composé à effet antibiotique puissant qui est libéré lors de l'écrasement de ces caïeux. Il est possible que cela ralentisse les bactéries impliquées, mais il est peu probable que l'ail puisse à lui seul arrêter la carie (Amruthesh, 2011).

La pâte d'ail et le citron vert sont utilisés pour soigner les douleurs buccales et les maux de gorge. Ils peuvent également être utilisés dans le dentifrice pour prévenir les caries dentaires (Ashfaq et al., 2021 ; Verma et al., 2023). Ainsi comme une solution désinfectante du canal radiculaire ou bain de bouche à base d'ail (Bakri et douglas, 2005 ; Motamayel et al., 2013 ;

Ambareen et Chinappa, 2014). Par contre, l'action antimicrobienne de la forme non diluée de l'HE est 900 fois plus puissante que celle de l'ail frais et 200 fois plus puissante que celle de l'ail en poudre (**Hussein et al., 2013**).

Les mécanismes médicinaux, antimicrobiens et parfois conservateurs de l'ail peuvent être trouvés dans les constituants. Dans une étude, l'huile d'ail a été utilisée dans la pulpotomie des dents primaires, et son taux de réussite clinique et radiographique était de 90 % (**Mohammad et al., 2014**). Dans une autre étude, le taux de réussite histologique de l'huile d'ail dans la pulpotomie était plus élevé que celui du formocrésol (**Mohammad et al., 2015 ; Kahvand et al., 2019**).

En dentisterie, l'ail trouve son utilité grâce à ses effets antibactériens dans le traitement de la parodontite, des caries dentaires et de l'endodontite. Des études récentes ont également montré l'effet bénéfique de l'ail dans le traitement du cancer buccal (**Karic et al., 2020 ; Milutinovici et al., 2021**). Une étude récente report que l'huile essentielle d'ail révèle une bonne efficacité antifongique en comparaison avec le fluconazole vis-à-vis des biofilms d'espèces de *Candida in-vitro* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. krusei*) isolées des prothèses dentaires (**Juache et al., 2017 ; Sasi et al., 2021**). Cela est due aux composants bioactifs de l'huile essentielle, tels que le sulfure de diallyle et le disulfure de méthyle-allyle, provoquant une fuite cytoplasmique en rompant la couche externe des liposaccharides fongiques et bactériens (**Sasi et al., 2021**).

Partie

expérimentale

Matériels

&

Méthodes

Partie 1 :
Isolement
&
identification des
agents cariogènes

Cette première partie a été réalisée entre le laboratoire de recherche en pharmacologie et celui de microbiologie, Institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

1. Population cible

La réalisation des prélèvements s'est étalée sur une période de deux mois. Les patients ont été consultés au cours des visites réalisées pour des douleurs dentaires ou divers maux buccaux.

1.1. Critères d'exclusion

- Antibiothérapie dans les trois derniers mois.
- Présence d'implants prosthétiques fixes ou mobiles.
- Avoir moins de 24 dents permanentes.
- Mauvaise hygiène.
- Présence de nombreuses malpositions dentaires.
- Application du fluor dans les 48 heures qui précèdent le prélèvement.

2. Méthodes

Les différentes méthodes utilisées dans cette partie de l'étude sont résumées dans le protocole détaillé suivant ;

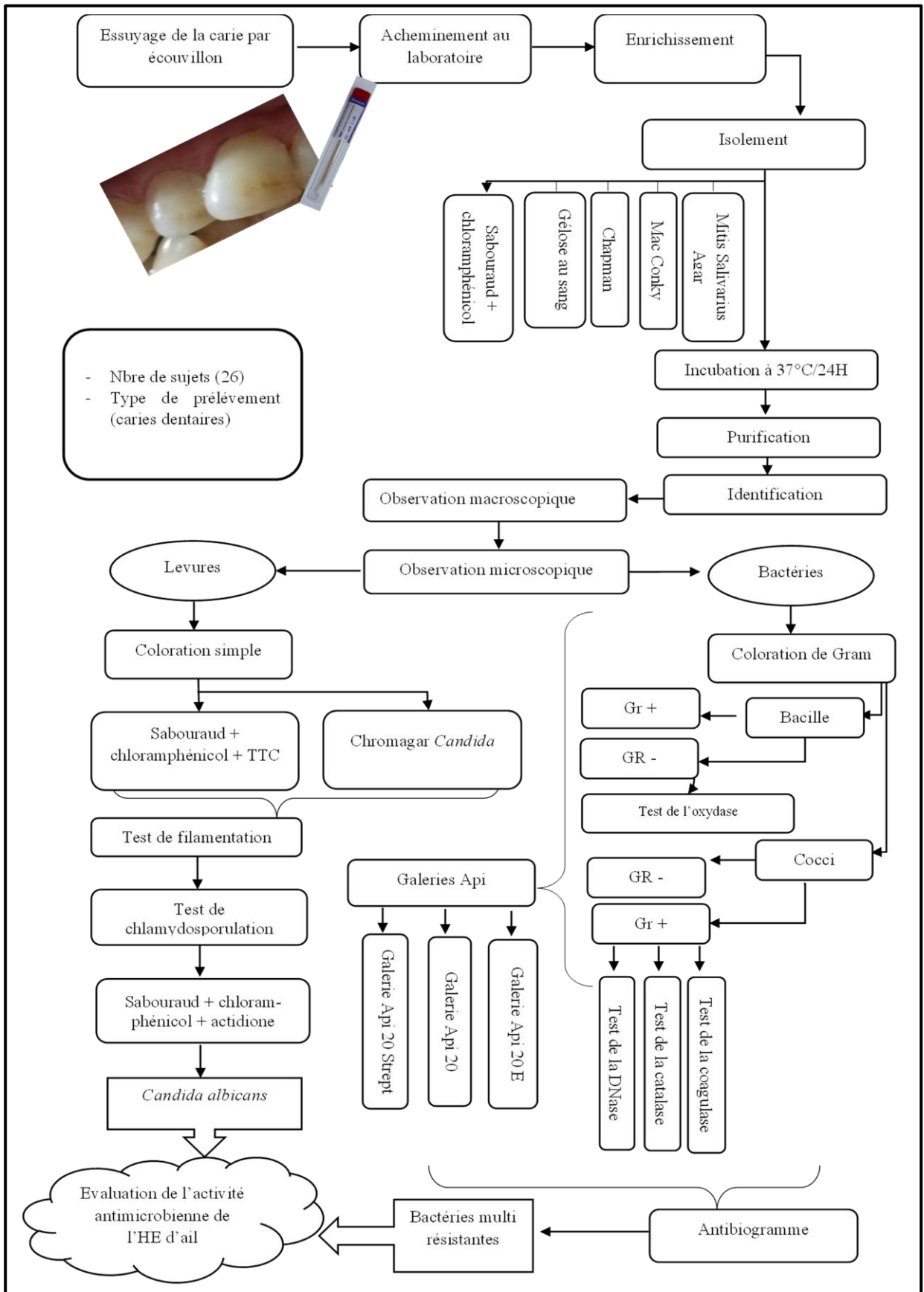


Figure 2.1 : Protocole expérimental récapitulatif d'isolement et d'identification des agents responsables de caries dentaires

2.1. Collecte des échantillons

Vingt-six prélèvements ont été effectués sur des sujets âgés de 20-60 ans, de différents sexes, souffrant de caries dentaires.

Les prélèvements des caries et des plaques dentaires, ont été soigneusement effectués par un chirurgien-dentiste, qui procède, après un examen clinique de la cavité buccale, aux prélèvements à partir des lésions carieuses par écouvillonnage. Après une dizaine de secondes de frottement, l'écouvillon est retiré et mis dans des tubes identifiés et étiquetés contenant du bouillon cœur-cerveille (BHIB) puis acheminés dans une glacière isotherme (à environ 4°C) au laboratoire de pharmacologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Tiaret.

Les fiche des renseignements des différents prélèvements buccaux contiennent des informations propres à chaque patient dont l'âge, le sexe, et le numéro du prélèvement.

Les prélèvements ont été accomplis le matin, 2h après le dernier brossage des dents, et 2h après le dernier repas, d'une manière aléatoire là où il y a présence de caries.

L'objectif du frottement est de prendre les micro-organismes sans apporter de la matière organique ou minérale.

2.2. Enrichissement

Enrichir, c'est augmenter la représentation (proportion) d'un sous-groupe de microorganismes dans un ensemble plus vaste. La présence de certaines bactéries à pouvoir pathogène spécifique dans un prélèvement, a une signification pathologique indiscutable, même si elles sont peu représentées. L'absence de colonies suspectes sur l'isolement sélectif ne suffit pas pour affirmer l'absence de ces bactéries dans le prélèvement. C'est pourquoi un enrichissement est mis en route en même temps que l'isolement (Guillaume, 2004). Un milieu d'enrichissement réunit deux caractéristiques :

- Il contient des molécules à action sélective inhibant totalement ou partiellement la culture des micro-organismes non recherchés ou utilise une température d'incubation particulière, ou encore une atmosphère particulière ;
- Il est liquide (bouillon) afin que son action sélective s'exerce sur une population importante et homogène (Guillaume, 2004).

Pour cela, tous les prélèvements effectués ont été incubé à 37°C pendant 24h une fois reçu au niveau du laboratoire de microbiologie, Institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

2.3. Détection des bactéries et des levures cariogènes

2.3.1. Cultures bactériennes et fongiques

Plusieurs cultures ont été réalisées en vue de mettre en évidence des bactéries ainsi que des *Candida* cariogènes.

A partir des milieux d'enrichissement présentant une croissance, nous avonsensemencé plusieurs milieux de culture gélosés préalablement coulés dans des boites de pétri afin d'isoler le maximum de bactéries et de levures présentes dans les prélèvements. L'ensemencement a été effectué en aérobiose ainsi qu'en anaérobiose suivie d'une incubation à 37°C pendant 24h.

Les écouvillons ont étéensemencés sur les milieux suivants :

- Gélose Chapman (Loofilchem) pour l'isolement des Staphylocoques ;
- Gélose Mac Conkey (Conda) pour l'isolement des bacilles aérobies à Gram négatif ;
- Gélose Mitis Salivarius Agar (Sigma Aldrich) pour l'isolement des streptocoques ;
- Gélose au sang (Merck) Pour l'isolement des bactéries à action hémolytique ;
- Gélose Sabouraud (Merck) + chloramphénicol pour l'isolement sélectif des levures et des champignons filamenteux ;
- Chromagar Candida (Realab) pour la détection et la différenciation qualitative entre les espèces du genre *Candida*.

Après incubation, les cultures positives sont alors purifiées puis conservées dans du glycérol (50%) afin de les conserver et les identifier par la suite.

2.3.2. Purification

Elle consiste à effectuer des repiquages successifs dans le but d'isoler les colonies et d'obtenir des cultures pures et homogènes à partir d'un mélange bactérien en faisant :

- Prélever chaque colonie d'aspect distinct à l'aide d'une anse de platine stérile ;
- Ensemencer les mêmes milieux de cultures par la colonie prélevée ;
- Incuber les boitesensemencées selon les conditions d'incubation des boites de prélèvement (Sanders, 2012).

2.3.3. Identification phénotypique des isolats bactériens

L'identification bactérienne est effectuée selon l'aspect microscopique et macroscopique des colonies, les tests biochimiques d'orientation et les galeries biochimiques miniaturisées API.

Les tests suivants doivent être réalisés pour chaque boite de culture pure obtenue.

2.3.3.1. Etude macroscopique

L'étude macroscopique repose sur une observation à l'œil nu des colonies bactériennes présentes dans les boîtes de pétri afin de décrire ses caractéristiques.

- Odeur fétide.
- Forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé et irrégulière.
- Aspect de la surface : lisse ou rugueux.
- Opacité : opaque, translucide et transparent.
- Consistance : grasse, crémeuse, sèche et muqueuse.
- Présence de pigmentations.
- Présence ou absence de l'hémolyse.

2.3.3.2. Etude microscopique

Permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne. Elle comprend :

- Examen après coloration de Gram

L'étude des caractères morphologiques a été réalisée par la coloration de Gram. Cette méthode met en évidence le mode de regroupement, la forme des cellules bactériennes, et le type de Gram. Cette technique a été réalisée selon la méthode décrite par **Delarras (2007)**.

2.3.3.3. Tests biochimiques complémentaires**- Test de l'oxydase**

L'oxydase ou le cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes. Cette enzyme intervient dans divers couples d'oxydo-réduction. La recherche de la phénylène-diamine-oxydase qui agit sur un substrat incolore, entraîne la formation d'une semi-quinone rouge. Cette dernière s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre. Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram (-) (**Harold, 1992**).

Technique

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi :

- Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « OX » et l'imbiber avec deux gouttes d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile.
- Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Lecture

Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes (**Carbonnelle, 1988 ; Labres, 2004**) puis vire au noir : bactérie oxydase (+).

- Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène gazeux qui se dégage. L'objectif de ce test est de reconnaître la présence de l'enzyme catalase.

Technique

Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée au contact d'une colonie bien isolée (**Joffin et Leylor, 2001**).

Lecture

Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : bactérie catalase (+).

- Test de la coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant le *S. aureus*. Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma humain et de la souche à tester, de préférence à partir d'une culture en gélose Chapman.

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube (**Kateete et al., 2010**).

- Recherche de la désoxyribonucléase (DNase)

Des preuves ont été apportées pour soutenir le rôle des désoxyribonucléases (DNases) bactériennes, qui sont des enzymes hydrolysant les acides nucléiques en vue de produire des oligonucléotides comme facteurs de virulence. Plus précisément, les DNases peuvent être impliquées dans la croissance bactérienne et la maturation des biofilms ainsi que dans la capacité des bactéries à s'échapper au système immunitaire (**Haas et al., 2014**).

Ce test a été effectué pour déterminer la capacité d'un organisme à produire l'enzyme désoxyribonucléase (DNase), afin de différencier le *Staphylococcus aureus* qui la produit des autres espèces staphylocoques qui ne la produisent pas.

- L'organisme à tester a été inoculé par une seule ligne au centre de la gélose à DNase.
- Incuber à 37° C pendant 24 h.

- Après incubation : Si le milieu de DNase ne contient pas d'indicateur coloré : Inonder la boîte avec de l'acide chlorhydrique 1N et laisser reposer la boîte pendant quelques minutes pour permettre au réactif de s'adsorber. Décanter l'excès de l'acide chlorhydrique, puis examiner la boîte dans les 5 minutes sur un fond sombre.

Un résultat positif se traduit par une zone claire autour de la culture (**Kateete et al., 2010**).

▪ Etude des caractères biochimiques par les galeries miniaturisées

Toutes les souches ont été identifiées grâce aux méthodes bactériologiques classiques (Production de la catalase et de l'oxydase...etc), puis à l'aide des galeries API 20E, API 20 Strep, API 20 Staph (Biomérieux, France) en fonction de la souche isolée. A partir de la suspension bactérienne préalablement préparée, les cupules de la galerie API ont été remplies selon les recommandations du fabricant, puis incubées à 37°C pendant 24h dans une atmosphère appropriée.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages de couleurs spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions a été faite à l'aide du tableau de lecture propre à chaque galerie et l'identification du genre a été obtenue à l'aide d'un logiciel Api web (Version 4.0).

2.3.4. Identification des *Candida***2.3.4.1. Examen macroscopique des cultures fongiques**

Les colonies de levure obtenues sur la gélose Sabouraud + chloramphénicol ont été observées à l'œil nu en vue de déterminer leurs caractéristiques culturelles.

2.3.4.2. Coloration simple au bleu de méthylène**Technique**

Un frottis frais a été préparé à partir des colonies isolées et purifiées sur le milieu CHROMagar® *Candida*, puis fixé et coloré en le couvrant par le bleu de méthylène. Laisser la préparation agir pendant une minute puis rincer à l'eau distillée. Le frottis est observé par la suite sous microscope optique (OPTIKA) au grossissement 40X et au grossissement 100X.

2.3.4.3. Purification et identification sur le milieu CHROMagar® *Candida*

La purification et l'identification des espèces de *Candida* se fait en fonction de la couleur des colonies développées sur le milieu CHROMagar® *Candida* après une incubation à 37°C pendant 24 h à 48 h (**Odds et Bernaerts, 1994**).

Cette coloration repose sur l'hydrolyse d'un substrat chromogénique sous l'effet d'une enzyme de type hexosaminidase plus ou moins spécifique de telle ou telle espèce (exemple : N-acétyl- β -D-galactosaminidase spécifique de *C. albicans*) (**Bouchara et al., 2010**).

Technique

A partir de la culture de levure obtenue sur la gélose Sabouraud + chloramphenicol, quelques colonies ont été prélevées puis ensemencées sur la gélose chromogénique CHROMagar® *Candida*, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48 h.

Ce milieu présente l'avantage de faciliter la détection des cultures de levure mélangées en fonction des différentes couleurs des colonies (**Odds et Bernaerts, 1994**).

Lecture

La lecture a été faite en fonction de la couleur des colonies de *Candida* après culture (tableau 2.1)

Tableau 2.1 : Aspect et couleur des colonies orientant l'identification des levures appartenant au genre *Candida* (Odds et Bernaerts, 1994).

Levure	Couleur
<i>C. albicans</i>	Vert clair à moyen
<i>C. tropicalis</i>	Bleu verdâtre à bleu métallisé
<i>C. krusei</i>	Rose pâle à blanchâtre en périphérie
<i>C. glabrata</i>	Rose ou mauve clair à foncé
Autres levures	Couleur crème (<i>Torulopsis</i>)

2.3.4.4. Purification et identification sur la gélose Sabouraud + chloramphénicol + Chlorure de 2, 3, 5-triphényl-tétrazolium (TTC)

Le principe de ce test est identique à celui du test CHROMagar® *Candida*. Il repose sur la réduction du chlorure de 2, 3, 5-triphényltétrazolium incorporé dans le milieu de culture en un produit coloré qui confère aux colonies de levures une coloration allant du rose au rouge selon l'espèce (Bouchara et al., 2010).

Technique

A partir de la culture de levure obtenue sur la gélose Sabouraud + chloramphénicol quelques colonies ont été prélevées puisensemencées sur la gélose Sabouraud + chloramphénicol + TTC, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture

La lecture a été faite selon le tableau ci-dessous.

Tableau 2.2 : Aspect et couleur des colonies orientant l'identification des levures appartenant au genre *Candida* (Bio-Rad, 2007).

Levure	Aspect, pigmentation des colonies
<i>Candida albicans</i>	Crémeuses, blanc rosé en 48 h
<i>Candida tropicalis</i>	Violettes
<i>Candida glabrata</i>	Blanches centre rosé
<i>Candida krusei</i>	Mates, blanches
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Blanches
<i>Candida guilliermondii</i>	Rose-rouge

2.3.4.5. Test de filamentation (blastèse)**Technique**

Une à deux colonies de levure à identifier ont été ensemencées dans un tube contenant 0.5ml du sérum humain frais, puis incubées à 37°C pendant 3h. Après incubation, une goutte a été déposée sur une lame propre et a été recouverte par une lamelle, puis observée sous microscope optique (OPTIKA) au grossissement 40X puis au 100X (Adoubryn *et al.*, 2014).

Lecture

C. albicans et *C. dubliniensis* forment des tubes germinatifs à partir des blastoconidies.

2.3.4.6. Test de Chlamydosporulation**Technique**

L'ensemencement a été fait sur le milieu RAT (Rice Agar Tween 80) en boîte de Pétri, une goutte prise à l'aide d'une pipette Pasteur à partir de la suspension (sérum+inoculum) a été ensemencée sur le milieu RAT. Une lamelle a été déposée au-dessus. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48 h. Après incubation, les boîtes ont été récupérées et observées sous microscope optique (OPTIKA) au grossissement 40X et au grossissement 100X (Adoubryn *et al.*, 2014).

Lecture

C. albicans et *C. dubliniensis* produisent des chlamydo-spores à l'extrémité des pseudo-filaments.

2.3.4.7. Purification et identification sur la gélose Sabouraud + chloramphénicol + Actidione (cycloheximide)

La gélose Sabouraud avec chloramphénicol et cycloheximide est un milieu hautement sélectif permettant d'isoler des champignons pathogènes à partir de matériaux comportant une flore fortement contaminée. Il peut servir à l'isolement de *Candida albicans* et de plusieurs autres *Candida* spp.

- Le cycloheximide est utilisé dans divers milieux d'isolement de champignons pathogènes en tant qu'inhibiteur de certains champignons non pathogènes comme les moisissures saprophytes et les levures.

La pathogénicité des champignons et l'état immunitaire des patients pouvant varier, il convient d'être vigilant lorsque seul un milieu contenant du cycloheximide est utilisé pour isoler des champignons, faute de quoi certains champignons opportunistes peuvent passer inaperçus.

- Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre, inhibiteur d'une large gamme de bactéries voire même de champignons pathogènes. Ce milieu est utilisé pour isoler des champignons à partir d'échantillons cliniques présumés contenir des contaminants bactériens et fongiques.

2.4. Antibiogramme

2.4.1. Application

Une suspension bactérienne de densité équivalente à chaque germe cible a été préparée à partir de chaque ensemencement. Dans des boîtes de 16 cm de diamètre, ensemencées à la surface de 20 ml de la gélose Müller Hinton ou de la gélose Müller Hinton additionné de 5% du sang ovin ; des disques imprégnés d'antibiotique de doses connues sont appliqués à la surface à des distances déterminées (tableau 2.3).

Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 30 min, ensuite dans une étuve à 37°C pendant 18 à 20 heures.

La lecture des résultats se fait par la mesure de zones d'inhibition, qui sont représentées par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée. Les valeurs sont comparées avec celles établies par la commission de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire (**MoARD, 2011**).

Tableau 2.3 : Liste des antibiotiques à tester.

<i>Genre</i>	<i>Familles</i>	<i>Antibiotiques</i>	<i>Charge</i>
<i>Klebsiella et Escherichia</i>	B-lactamines	Amoxicilline+Acide clavulanique (Bioanalyse)	30 µg
	Aminosides	Gentamicine (Liofilchem)	10 µg
	Phénicol	Chloramphenicol (Bioanalyse)	30 mcg
	Quinolones	Acide nalidixique (Bioanalyse)	30 mcg
	Sulfamides	Sulfaméthoxazole (Liofilchem)	25µg
<i>Staphylococcus</i>	B-lactamine	Oxacilline (Cypress diagnostiques)	1 µg
	Quinolones	Ofloxacin (Bioanalyse)	5 mcg
	Aminosides	Gentamicine (Liofilchem)	10 µg
	Macrolides	Erythromycine (Oxoid)	15 µg
	Cyclines	Tetracycline (Himedia)	30 mcg
	Phénicol	Chloramphenicol (Bioanalyse)	30 mcg
	Sulfamides	Sulfaméthoxazole (Liofilchem)	25µg

Tableau 2.3 (suite) : Liste des antibiotiques à tester

<i>Aerococcus</i>	Cyclines	Tetracycline (Himedia)	30 mcg
	Phénicol	Chloramphenicol (Bioanalyse)	30 mcg
	Glycopeptides	Vancomycine (Liofilchem)	30 µg
	Macrolides	Spiramycine (Himedia)	100 mcg
	B-lactamines	Cefoxitin (Liofilchem)	30 µ

Partie 2 :
Etude
phytochimique et
activité
antioxydante

Cette partie a été réalisée au laboratoire de pharmacologie, au niveau de l'institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun de Tiaret. Cependant, l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle a été faite au niveau de la Sarl Pyrenessences Analyse (France).

1. Plantes médicinales

L'ail « *Allium sativum* L. » a été acheté auprès d'un agriculteur pendant le mois de d'Aout 2020. Les gousses ont été utilisées pour l'extraction et qui ont subi plusieurs étapes de préparation avant de procéder à l'extraction (Triage, lavage, épluchage, et le découpage) (figure 2.2).



Figure 2.2: Bulbe d' *Allium sativum* L.

1.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

Les gousses d'ail ont été écrasées à l'aide d'un mortier afin d'éclater les cellules et permettre la libération des molécules volatiles. L'huile a été extraite par hydrodistillation, à l'aide du dispositif d'hydrodistillation (figure 2.3). Le procédé consiste à introduire la matière première végétale (150 g d'ail) dans un ballon d'un litre, imprégné de 500 ml d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements lors de l'ébullition. L'ensemble est ensuite porté à l'ébullition à pression atmosphérique pendant 2h. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs chargées d'huile essentielle ; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Herrera-Calderon *et al.*, 2021 ; Selles *et al.*, 2020).



Figure 2.3: Dispositif d'hydrodistillation.

1.1.1. Traitement de l'huile essentielle

Après décantation, l'eau est rejetée et la phase huileuse est récupérée par une micropipette. La phase huileuse récupérée est séchée par du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis conservée à 4°C dans des flacons ambrés scellés hermétiquement jusqu'à leurs utilisations ultérieures (réalisation de l'analyse chromatographique, des tests antioxydants et évaluation des effets antimicrobiens).

1.1.2. Calcul du rendement

Le rendement, est exprimé en pourcentage, et calculé selon la formule :

$$RHE(\%) = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100$$

Où :

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en % ;

M_{HE} : Masse d'extrait récupérée exprimée en (g) ;

M_S : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

1.2. Analyse de la composition chimique des HEs par CG/MS et CG/FID

Notre échantillon d'huile essentielle a été analysé par chromatographie en phase gazeuse grâce à un chromatographe équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS). Ces techniques sont très utilisées dans l'analyse qualitative et quantitative des HEs. L'analyse de la composition chimique des HEs a été faite au niveau de la Sarl Pyrenessences Analyse (France) selon la norme ISO 11024.

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse de type HEWLETT PACKARD (GC : 6890 - SM : 5973) ; équipé d'une colonne capillaire HP INNOWAX polaire (60 m x 0,25 mm) avec une épaisseur du film de 0,5 µm.

L'échantillon est dilué dans l'éthanol (10 % v/v). Le volume injecté a été de 1 µl. Le gaz vecteur est l'hélium (30 psi/FID ; 23 psi/MS). La température de la colonne est programmée à 60°C durant 6 minutes, puis 2°C/min jusqu'au 250°C et 10 minutes à 250°C.

Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (la bibliothèque propre de la Sarl) et des spectres de masse (bibliothèque NKS, 75 000 spectres). Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics donnés par le CG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction.

1.3. Activités antioxydantes

Dans cette étude, la capacité antioxydante a été mesurée par deux méthodes complémentaires : le pouvoir réducteur et l'activité anti-radicalaire au DPPH.

1.3.1. Pouvoir réducteur

- Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice est déterminée selon la méthode de **Yen et Duh (1993)**, basée sur la réaction chimique de réduction du Fer (III) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fer (II) (**Ferreira et al., 2007 ; Ak et Gulçin, 2008**).

- Mode opératoire

L'huile essentielle est solubilisée dans l'éthanol (1/200 v/v), puis 2,5 ml de chaque solution (ou éthanol pour l'échantillon de contrôle) sont mélangés avec 2,5 ml d'une solution à 1 % de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) et 2,5 ml d'un tampon phosphate (0,02 M, pH 6,6). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Après refroidissement, 2,5 ml d'une solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% sont ajoutés. La solution est centrifugée à 3000 rpm pendant 10 min. Le surnageant (1 ml) est mélangé à 1ml d'eau distillée puis 0,5 ml de chlorure de fer (0,1%).

L'absorbance est mesurée à 700 nm (Yen et Duh, 1993).

La figure n°2.4 reprend les principales étapes du protocole expérimental du pouvoir réducteur. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'huile à tester. La valeur d'EC₅₀ est la concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0,5 pour la capacité réductrice et est obtenue à partir des courbes à régression linéaire (Chang et al., 2007).

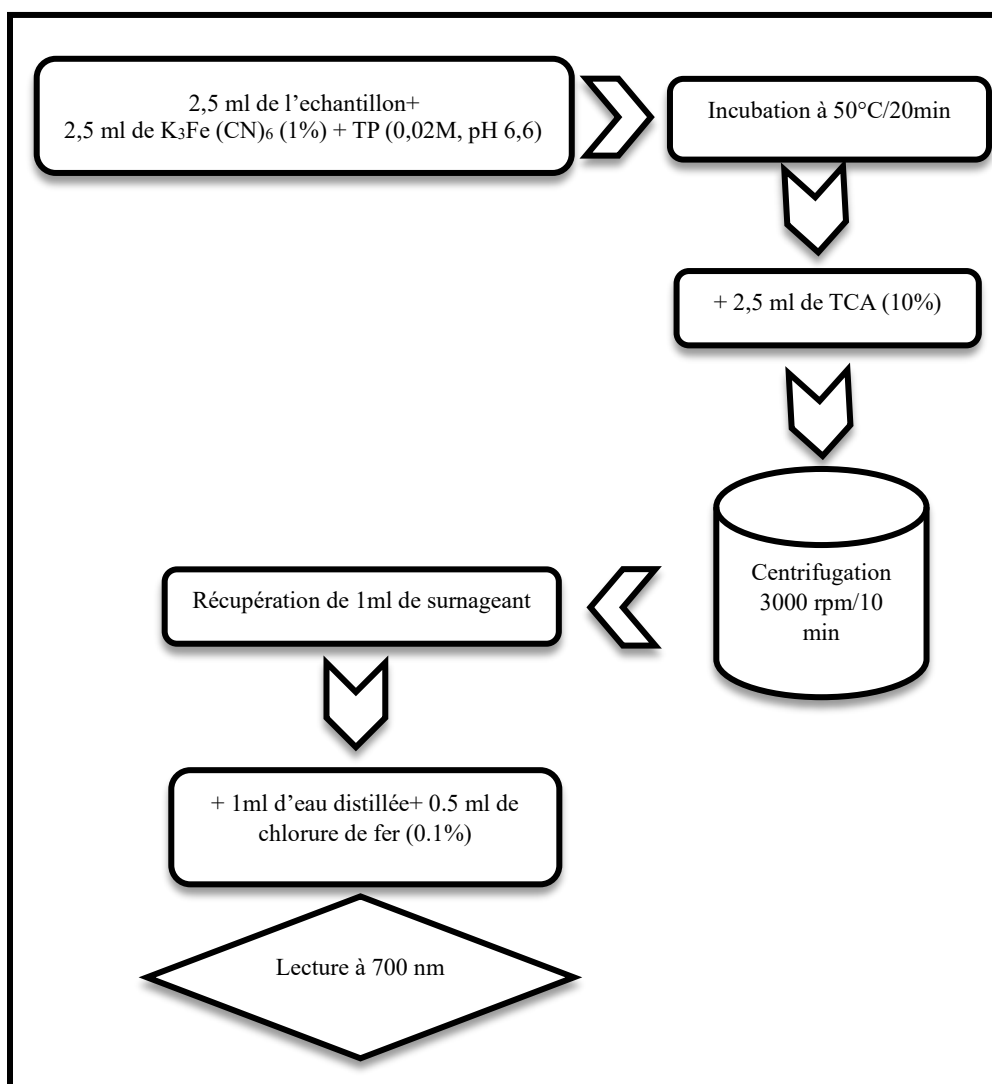


Figure 2.4 : Protocole de détermination du pouvoir réducteur (Yen et Duh, 1993).

1.3.2. Activité anti-radicalaire à l'égard du DPPH

L'activité anti-radicalaire a été estimée selon la méthode de **Tien et al. (2005)**.

- Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ; α, α -diphényl- β -picrylhydrazyl) est pratiquement, le radical libre le plus stable (**Niki, 2010**). En solution dans l'éthanol, le DPPH est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 517 nm (**Niki, 2010**). Lorsque son électron seul est apparié à un hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pâle.

Ce passage, de la première forme à la seconde, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction du DPPH.

$$AA (\%) = \frac{(A_T - A_E)}{A_T} \times 100$$

AA : activité anti-radicalaire

A_T : absorbance du témoin.

A_E : absorbance de l'échantillon

- Mode opératoire

A 0,4 ml de la solution du DPPH à 0,5 mM (préparé dans de l'éthanol pur), on ajoute 2 ml de l'échantillon à étudier préalablement solubiliser dans l'éthanol. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, la lecture se fait à 517 nm (figure 2.5). L'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique sont utilisés comme standard. La valeur d'IC₅₀ est définie comme étant la quantité en échantillon capable de réduire 50% de la concentration initiale du DPPH (**Niki, 2010**). Les IC₅₀ sont calculées à partir des courbes à régression linéaire (**Chang et al., 2007**).

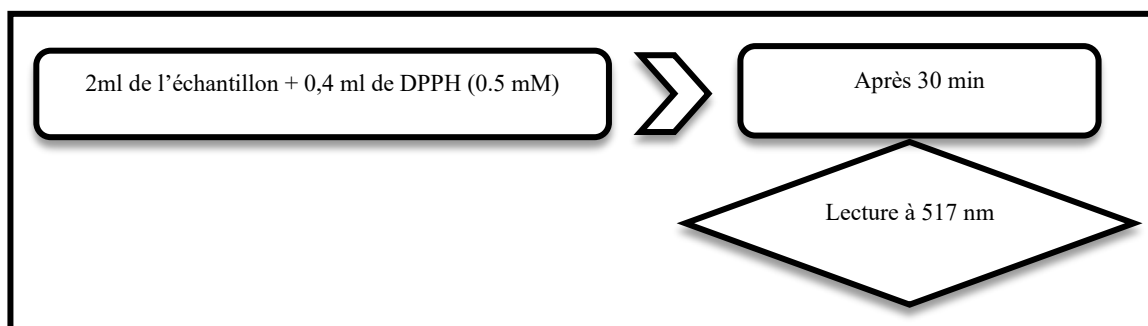


Figure 2.5 : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire au DPPH (**Tien et al., 2005**).

1.3.3. Analyse statistique

Toutes les expériences de l'activité antioxydante ont été effectuées en trois exemplaires et les résultats ont été exprimés sous forme de valeurs moyennes avec écarts-types. Les différences significatives ont été obtenues par une analyse de variance à un seul facteur (ANOVA) suivie d'un test post hoc de différence significative (HSD) de Tukey ($p < 0,01$). Cette analyse a été réalisée en utilisant le logiciel de statistique R (version 3.3.0/ 03- 05-2016).

Partie 3 :
Etude
De l'activité
antimicrobienne

Cette partie expérimentale a été réalisée aux laboratoires de pharmacologie, Institut des Sciences Vétérinaires de Tiaret puis au laboratoire de microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

La détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a été réalisée vis-à-vis de quatre bactéries multirésistantes (*Aerococcus viridans* ; *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus*) et une souche de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) et six levures (6 isolats de *C. albicans*, et une souche de *C. albicans* ATCC 25923 isolées des patients souffrant de caries dentaires à l'aide de la méthode de micro-dilution.

1.1. Préparation de l'inoculum

Une préculture des souches microbiennes a été réalisée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. Les suspensions d'inoculum ont été obtenues en prenant cinq colonies à partir des cultures de 24 h. Les colonies ont été mises en suspension dans 5 ml de solution d'eau physiologique stérile (0,85 % de NaCl) en agitant pendant 15 secondes. La turbidité est ensuite ajustée avec un spectrophotomètre, à $1-5 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries (DO = 0,08 à 0,1 / $\lambda = 625$ nm) et $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures (DO = 0,12 à 0,15 / $\lambda = 625$ nm) (NCCLS, 2001).

1.2. Test préliminaire « in-vitro »

La technique d'aromatogramme a été effectuée afin d'évaluer l'activité antimicrobienne d'HE. Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des antibiotiques (Benjelali et al., 1986) vis-à-vis des isolats de souches bactériennes multirésistantes et des isolats fongiques obtenus et de 3 souches de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 25923).

- Principe

Cette méthode qualitative teste la sensibilité ou la résistance des micro-organismes par contact direct avec l'huile essentielle. C'est une méthode qui est généralement utilisée pour la présélection de l'activité antimicrobienne de l'HE, car le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité d'HE mais une indication qualitative de la sensibilité ou de la résistance des germes.

Il repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le micro-organisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure

d'une zone d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (**Ponce et al., 2003**).

- Protocole expérimental

Un disque de cellulose stérile (diamètre 6 mm/Watman n° 40) préalablement imprégné de 5 µl d'huile essentielle a été déposé à la surface d'un milieu gélosé (gélose Mueller-Hinton pour les bactéries et le milieu Sabouraud pour les levures) en boîte de Pétri préalablement ensemencée par les inocula déjà préparés (ne dépassant pas les 15 min). Les boîtes sont laissées 30 min à température ambiante puis retournées et incubées à 37 °C pendant 18-24 h pour les bactéries, à 37°C pendant 24-48 h pour les levures.

Dans les boîtes de contrôle, les disques sont trempés dans de l'eau physiologique stérile. L'expérience est répétée trois fois pour chaque isolat.

- Lecture

La lecture a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'HE (**Ponce et al., 2003**).

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

1.3. Détermination des CMI et des CMB par la méthode de micro-dilution

La méthode de micro-dilution a été utilisée pour la détermination des activités antimicrobiennes des huiles essentielles étudiée vis-à-vis des souches bactériennes ayant une multi-résistance envers quatre classes d'antibiotiques et plus et des isolats fongiques.

La détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée par la méthode de dilution en série sur des microplaques en matière plastique comportant 96 puits à fond « U » (8 rangées de 12 puits numérotés de 1 à 12) en bouillon Müller Hinton pour les bactéries et un bouillon Sabouraud dextrose selon les recommandations du CLSI (**CLSI, 2006 ; NCCLS, 1999**).

La concentration de départ des solutions de l'huile essentielle à tester étaient de 10 µl/ml (*Allium sativum L.*) ce qui est équivalent à 9.5 mg/ml.

La solution mère a été préparée dans le Tween 20 à 10 % (1/9 v/v) puis une double dilution en série a été faite. L'inoculum a été ajouté à tous les puits de façon à obtenir une concentration finale de bactéries d'environ $1-5 \times 10^5$ CFU / ml et une concentration finale de levure d'environ 1×10^4 , les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 37°C pendant 24 pour les souches fongiques.

Pour chaque expérience, un contrôle positif (milieu inoculé) et un contrôle négatif (milieu seul) ont été préparés. La croissance bactérienne a été visualisée en ajoutant de la solution aqueuse à 0,5 % de chlorure de 2, 3, 5- triphényl-tétrazolium (TTC) (**Radulovic et al., 2011**).

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la concentration la plus faible des huiles qui a inhibé la croissance visible (La formation de pastille de couleur rouge au fond du puits après l'addition de TTC), tandis que la concentration minimale bactéricide (CMB) a été définie comme la plus faible concentration de l'huile qui tue 99,9% des cellules bactériennes.

Pour déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF), 10 µl de bouillon a été prise de chaque puits sans croissance visible et inoculée sur une gélose nutritive pendant 24 h à 37 °C pour les bactéries ou sur gélose Sabouraud dextrose pendant 24 h à 30 °C pour les levures. La croissance des souches bactériennes et/ou fongiques testées correspondant à l'activité bactériostatique et/ fongistatique, tandis que l'effet bactéricide et/ou fongicide est révélé par une gélose claire après incubation (**Dramane, 2010**). Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

L'huile essentielle était considérée comme fongicide si le rapport du CMF au CMI ne dépassait pas la valeur 4. Avec un ratio supérieur à 4 et inférieur à 32, l'huile essentielle était considérée comme fongistatique. La souche fongique est considérée tolérante à l'huile essentielle si le rapport CMF/CMI est supérieur ou égal à 32 (**Cutler et al., 1994**).

Résultats et discussion

Partie 1 :
Isolement
&
identification des
agents cariogènes

1. Résultat de l'isolement

1.1. Fréquences d'isolement des germes buccaux

Après ensemencement des différents prélèvements dentaires (26 échantillons) sur des milieux de culture appropriés à chaque germe ciblé, nous avons obtenu différentes cultures bactériennes et fongiques où les bactéries constituent près de 82.86 % du total de la flore isolée, alors que les espèces fongiques ont représenté 17.14% seulement (figure 2.6)

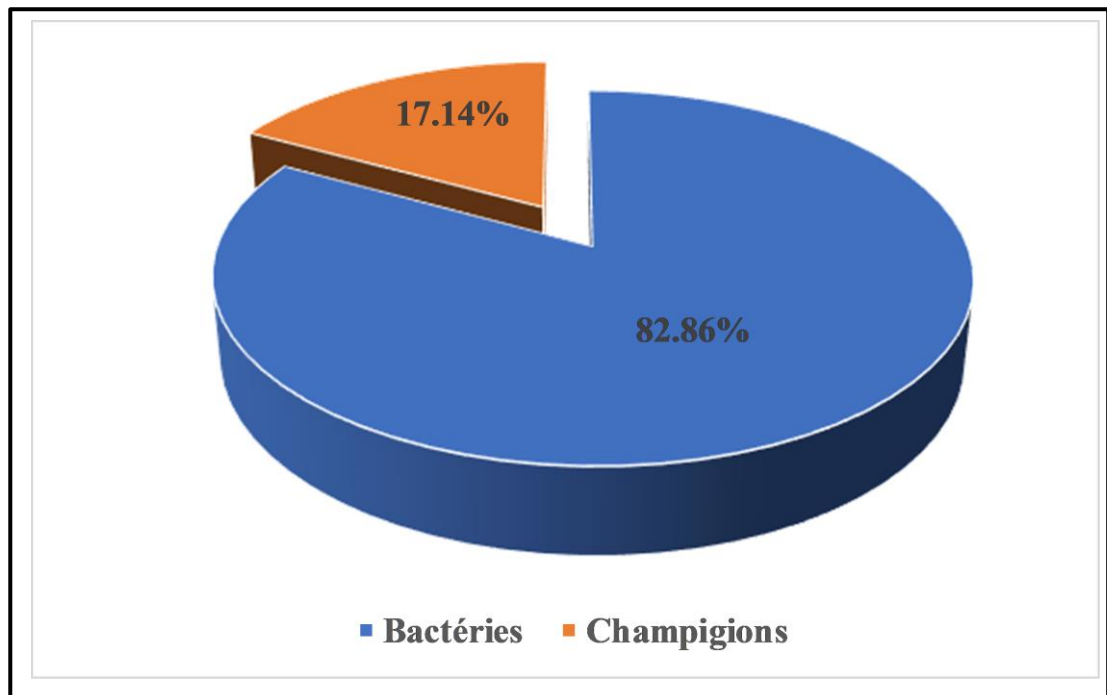


Figure 2.6 : Fréquences d'isolement des micro-organismes buccaux.

1.2. Fréquences d'isolement des différentes espèces de la flore buccale

La figure 2.7 montre que *Aerococcus viridans* a été la bactérie la plus dominante avec un taux de 45.71%, suivi par *Candida albicans* (17.14%), *Staphylococcus epidermidis* (14.29%), *Staphylococcus aureus* (11.29%), *Klebsiella oxytoca* (5.71%). Cependant, *Leuconostoc* spp. et *Staphylococcus xylosus* n'ont affiché qu'un taux égal à 2.86% pour chacune.

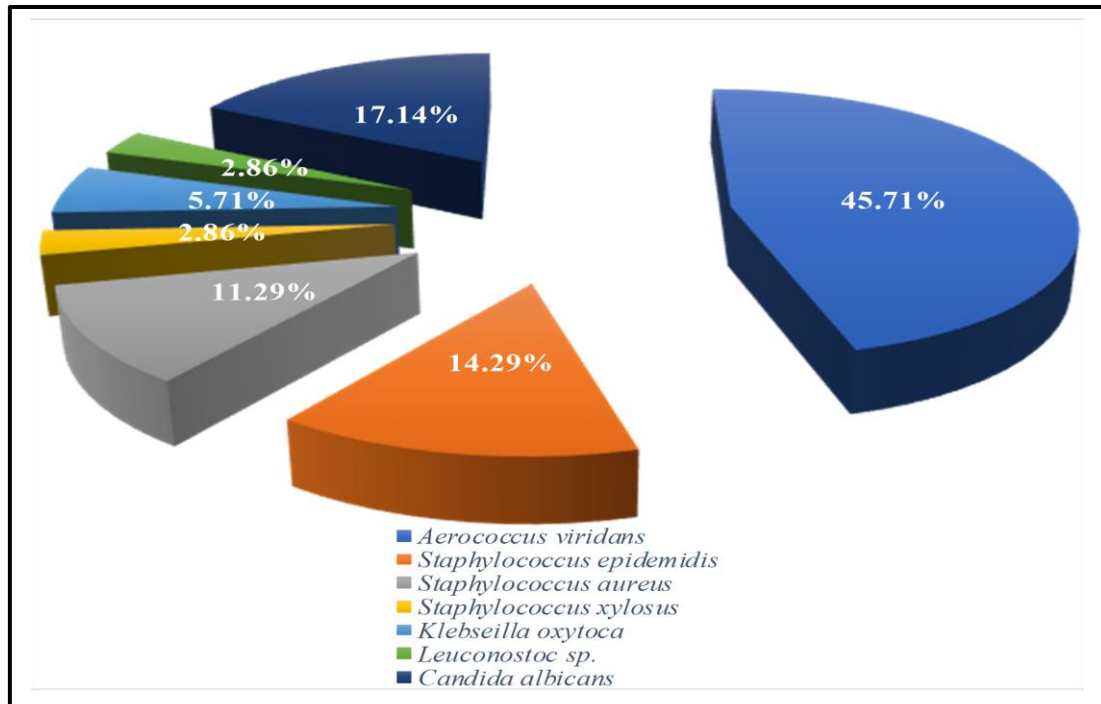


Figure 2.7 : Fréquences d'isolement des espèces microbiennes buccales

▪ *Aerococcus viridans*

La présente étude a été caractérisée par une fréquence d'isolement d'*Aerococcus viridans* de l'ordre de 45.71% à partir des prélèvements de caries dentaires. Des taux inférieurs à ceux de notre étude ont été signalés par **Sara et al. (2015)** et **Hoceini et al. (2016)** en Algérie avec des fréquences de 6% et 7.7%, respectivement, à partir des prélèvements des plaques supra et sous gingivales. **Belmabrouk et al. (2021)** ont rapporté une fréquence d'isolement d'*Aerococcus viridans* de 14.2% chez les patients présentant une carie dentaire.

La fréquence obtenue au cours de la présente étude a été ainsi inférieure à celle rapportée dans l'étude de **Kaboré et al. (2016a)** avec un taux de 81.1% (30/37 souches isolées). Ces mêmes auteurs ont montré que 70.3% des souches d'*Aerococcus viridans* isolées au cours de leurs étude ont été impliquées dans la cellulite d'origine dentaire. Egalement, **Kaboré et al. (2016b)** ont noté que 72.7% d'*Aerococcus viridans* identifiée ont été isolée des cas de parodontite buccale.

Plusieurs auteurs ont rapporté que *ce germe* a été isolé à partir des patients souffrants des caries dentaires. Bien que cette bactérie été rarement étudiée comme étant un objectif principal de ces études (**Çalik et al., 2011 ; Jiang et al., 2013**). Cette bactérie est habituellement considérée comme la cause d'infections nosocomiales et elle a été longtemps confondue avec *Streptococcus* ou *Staphylococcus* (**Seydou et al., 2023**). **Jiang et al. (2013)** ont rapporté des infections odontogènes sévères dues à *A. viridans*. De plus, les aérococques oraux peuvent

constituer un réservoir potentiel d'éléments transférables de virulence et de résistance aux antimicrobiens.

▪ *Staphylococcus*

A partir des vingt-six prélèvements de caries dentaires, dix souches de *Staphylococcus* spp appartenant à 3 espèces ont été isolées, ce qui représente une fréquence de 28.57%. Toutefois, *Staphylococcus epidermidis* a été la souche la plus fréquemment détectée avec un taux de 14.29% suivie du *Staphylococcus aureus* (11.43%) et *Staphylococcus xylosum* (2.85%).

Une fréquence inférieure à celle enregistrée dans notre étude a été signalée par **Olajokun et al. (2008)** avec un taux de 13.2%. Cependant des taux supérieurs ont été cités par **Zimmerli et al. (2009)** ; **Kouidhi et al. (2010)** ; **Yadav et Prakash (2015)** avec des fréquences allant de 31.64% à 50%. De même, **Colombo et al. (2013)** ont noté que la prévalence des Staphylocoques sous-gingivaux obtenus à partir des patients souffrant de maladies parodontales était globalement de 45% et qui peut aller jusqu'à 64% dans le cas sévère de la maladie. Parmi ces Staphylocoques, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* ont été incriminés comme étant les espèces les plus prédominantes et les plus détectées et qui sont responsables de la formation des plaques dentaires (vue l'interaction entre elle) à sur la surface des dents (**Yadav et Prakash, 2015**).

Bien que les staphylocoques, dont *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, soient connus pour être des agents pathogènes à l'origine d'infections nosocomiales (**Kouidhi et al., 2010**), ils ne sont que moins fréquemment étudiés dans la cavité buccale. Quoique possédant un potentiel pathogène, *Staphylococcus aureus* est généralement un commensal non invasif de divers sites corporels (**Mertz et al., 2007**). Toutefois, cette espèce microbienne a été plus récemment identifiée comme un résident dans la cavité buccale (**Schlecht et al., 2015**).

Concernant *Staphylococcus aureus*, une fréquence de 11.43% a été notée dans la présente étude. Un taux supérieur à celui obtenu dans la présente étude a été signalé chez les patients souffrant de diverses maladies bucco-dentaires par (**Merghni et al., 2014**) et que est de l'ordre de 20%. Additionnellement, **Dahlen et al. (1982)** et **Öhman et al. (1995)** ont montré que *Staphylococcus aureus* a été isolée dans 24 à 36 % des cavités buccales saines. Alors que, **Ohara et al. (2008)** ont affiché une occurrence de 46.4 % de cette bactérie dans la plaque et la salive d'adultes en bonne santé.

Staphylococcus aureus peut être isolée de la plaque supra-gingivale et sous-gingivale chez l'homme (**Tada et al., 2006** ; **Fritschi et al., 2008** ; **Buonavoglia et al., 2010** ; **Cuesta et al., 2010**). Ce micro-organisme s'est avéré être une cause fréquente d'infections associées aux implants et autres biomatériaux (**Passariello et al., 1991** ; **Pye et al., 2009**) et il a été impliqué

comme agent potentiel dans la pathogenèse de plusieurs maladies bucco-dentaires (**Fritschi et al., 2008 ; Passariello et al., 2012**).

De plus, les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) ont été isolées dans la cavité buccale (**Small et al., 2007 ; Zimmerli et al., 2009**). La présence des souches SARM peut être due à une transmission du personnel dentaire infecté aux patients et vice versa, associé à une absence des précautions d'hygiène standard (**Roberts et al., 2011 ; Koukos et al., 2015**).

Le rôle des Staphylocoques dans l'initiation et le développement des caries n'est pas bien connu. Il se peut que *Staphylococcus aureus* ne soit pas l'agent étiologique de la formation des caries, contrairement aux Streptocoques ou aux Lactobacilles, mais sa présence dans la plaque dentaire a été prouvée (**Didilescu et al., 2005**).

De plus, *Staphylococcus aureus* pourrait jouer un rôle dans la défaillance des implants dentaires (**Kronström et al., 2001 ; Rokadiya et Malden, 2008**). Il semble probable qu'à l'instar des infections causées par *Staphylococcus aureus* sur d'autres sites corporels, un certain nombre d'infections orales à Staphylocoques sont probablement le résultat d'une infection croisée (**Martin et Hardy, 1991 ; Kurita et al., 2009 ; McCormack et al., 2015**).

La fréquence des Staphylocoques dans la cavité buccale peut varier considérablement d'une étude à l'autre en raison des méthodes employées pour leur détection (**McCormack et al., 2015**).

▪ *Candida*

Candida albicans fut le deuxième micro-organisme isolé des patients souffrants de caries dentaires à raison de 17.14%.

Plusieurs rapports ont mis le lien entre le genre de *Candida* et l'apparition de caries dentaires sur la base de sa fréquence au niveau des cavités en raison de son aptitude à produire et à tolérer les environnements acides (**Klinke et al., 2011**).

Ce micro-organisme opportuniste et commensal profite des conditions de dysfonctionnement immunitaire, pour en devenir pathogène, provoquant une série d'infections allant d'infections localisées des muqueuses à des infections systémiques graves avec des taux de morbidité et de mortalité élevés (**de Repentigny, 2004 ; Perlroth et al., 2007 ; Calderone et Clancy, 2012**). Le succès de cette espèce en tant que pathogène opportuniste est dû à son répertoire de facteurs cruciaux de virulence, y compris sa capacité à passer d'une morphologie de levure à une morphologie hyphale (**Calderone et Clancy, 2012 ; Schlecht et al., 2015**).

La diversité microbienne chez les patients souffrant de caries dentaires peut s'expliquer par :

- Le personnel du cabinet dentaire et les patients risquent d'être exposés à diverses matières infectieuses lors de la prestation de soins dentaires. De nombreux micro-organismes pathogènes colonisant la bouche, les voies nasales et respiratoires peuvent être disséminés directement ou indirectement dans la zone de traitement dentaire (**Kramer et al., 2006 ; Schneiderman et Cartee, 2020 ; De Paola et Grant, 2020**).

- Tout ce qui est placé dans la bouche d'un patient par tout prestataire de soins dentaires est contaminé par sa microflore et cela provoque par la suite la contamination dans l'ensemble du cabinet dentaire par les voies de transmission potentielles suivantes :

→ Contact direct avec le sang, les fluides oraux, d'autres fluides corporels.

→ Contact indirect avec des objets contaminés, notamment des instruments, des équipements ou des surfaces environnementales.

→ Contact des yeux, du nez, de la bouche et/ou des muqueuses avec des gouttelettes/éclaboussures contenant des micro-organismes générés par une personne infectée lorsqu'elle tousse, éternue ou parle.

→ L'inhalation de micro-organismes en suspension dans l'air qui peuvent rester pendant de longues périodes (**Schneiderman et Cartee, 2020**).

Les brosses à dents sont constamment exposées aux micro-organismes buccaux et ceux de l'environnement dans lequel elles sont stockées (**Bunetel et al., 2000**). Une étude réalisée en 2020, dans laquelle la diversité microbienne des brosses à dents et des cavités buccales de 20 participants a été examinée par séquençage à haut débit, a révélé que ceux-ci partageaient des indices similaires et que certaines espèces étaient enrichies dans les autres brosses, notamment *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* et *C. albicans* (**Shang et al., 2020**).

- Ces espèces ont été impliquées dans des maladies infectieuses, neurodégénératives, cardiovasculaires et des cancers. Effectivement, cela souligne quelles peuvent créer des réservoirs de bactéries, qui sont réintroduites chez l'hôte quotidiennement (**Sedghi et al. (2021)**). De même, la détection du *Candida*, du *Staphylococcus epidermidis* et d'*Aerococcus* dans des brosses à dents est associée à la mauvaise hygiène ou le stockage (**Yaacob et al., 2014 ; Alali et al., 2021**).

- Le risque le plus élevé de transmission d'agents pathogènes est la conséquence du contact direct du sang à sang. Cependant, la source d'infection la plus courante dans les cabinets dentaires est les aérosols qui sont libérés lors de nombreux traitements dentaires. Il s'agit du nettoyage des surfaces buccales par pulvérisation d'eau, de la préparation des substances dentaires cariées et non cariées à l'aide de pièces à main à grande vitesse, du nettoyage supra- et sous-gingival, ainsi que la chirurgie endodontique et orale à l'aide d'instruments à ultrasons

(Kedjarune et al., 2000 ; Zemouri et al., 2017). Ils peuvent renfermer des micro-organismes découlant de la cavité buccale ou du biofilm de l'unité dentaire, ainsi que des gouttelettes de sang et des virus transmis par le sang (Bennett et al., 2000 ; Harrel et Molinari, 2004 ; Decraene et al., 2008 ; Kimmerle et al., 2012 ; Volgenant et de Soet, 2018). Le traitement journalier de nombreux patients expose le personnel dentaire à une fréquence élevée à cet agent contaminant (Garus-Pakowska et al., 2017 ; Gund et al., 2021).

- Le port de masque chirurgical peut aussi être un véhicule de contaminant (Gund et al., 2021), divers micro-organismes dont le genre *Staphylococcus* ont été décelés, où les espèces *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, sont les plus fréquentes. *A. viridans* était ainsi détectée. Ces mêmes auteurs ont clairement montré que la contamination peut se mettre en place en touchant un masque facial contaminé par des micro-organismes provenant du patient traité précédemment, avec un risque important pour le patient suivant ou le thérapeute lui-même. Le micro-organisme le plus fréquemment isolé dans l'étude menée par Al Maghlouth et ses collaborateurs était *Staphylococcus epidermidis* (Al Maghlouth et al., 2004).

- La détection des Streptocoques non hémolytiques, *Lactobacillus*, *Neisseria*, Streptocoques hémolytiques B, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *C. albicans*, *Staphylococcus epidermis* et *Branhamella catarrhalis* à partir de la pierre ponce dentaire pulvérisée est un risque inacceptable en dentisterie (Kahn et al., 1982 ; Sykes et al., 2019).

- Les micro-organismes ont été trouvés sur tous les échantillons de téléphones portables de tout le staff du cabinet dentaire, le taux de contamination était de 100%. Les micro-organismes isolés et leur fréquence d'apparition étaient : *Staphylococcus epidermidis* (51%), *Micrococcus* spp. (20%), *C. albicans* (57%) et *Aspergillus niger* (8%) (Al-Ghurabi et al., 2017).

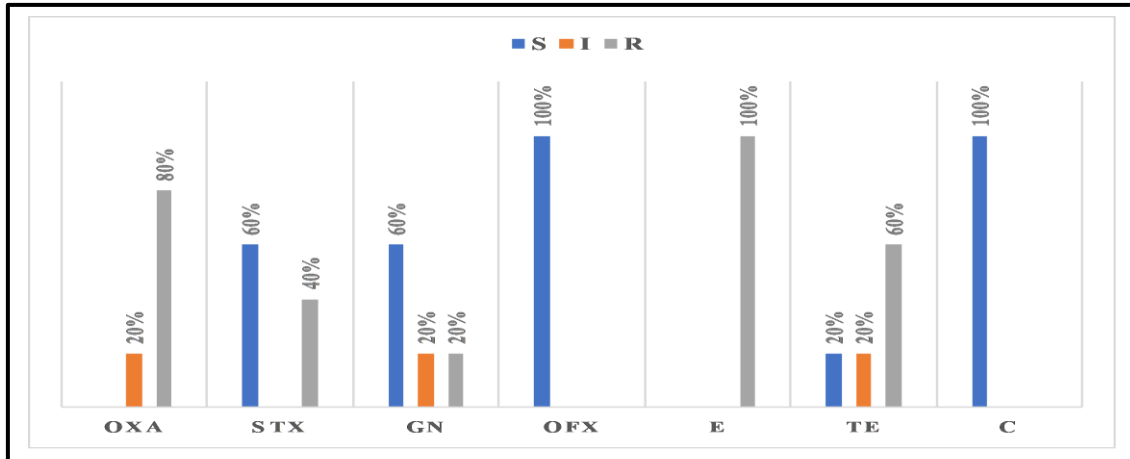
- La résistance de nombreux micro-organismes aux antibiotiques est l'une des plus grandes menaces provoquant des infections qui entraînent une morbidité et une mortalité importantes à l'échelle universelle (OMS, 2016). Il est bien connu que l'antibiorésistance peut provoquer des infections nosocomiales qui nécessitent non seulement un traitement antibiotique coûteux, mais aussi le développement d'agents ayant une activité antibactérienne marquée, une plus grande sensibilité et une moindre toxicité (Alghuthaymi, 2016).

2. Résultats de l'antibiogramme

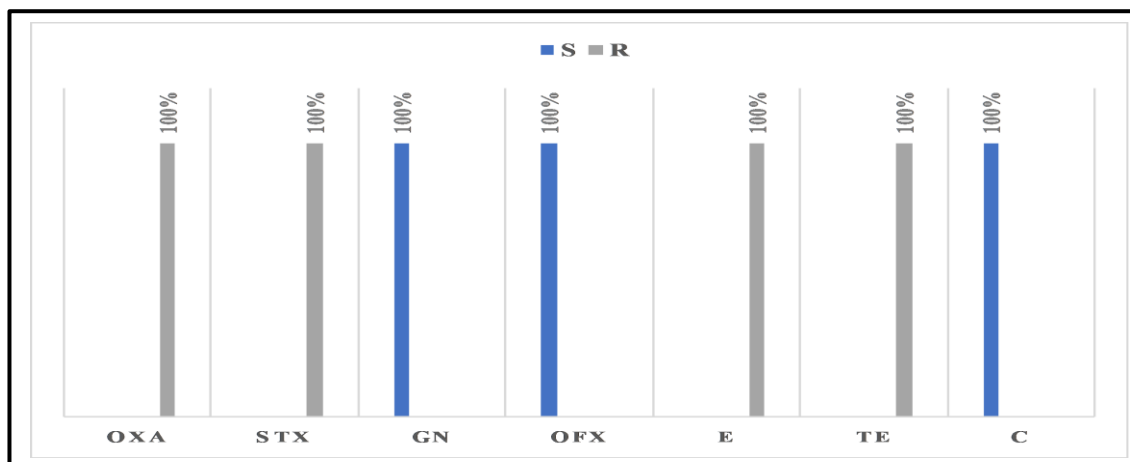
2.1 Résistance aux antibiotiques

Nous avons testé l'activité antibactérienne de plusieurs familles d'antibiotiques propre à chaque genre par la méthode standard des disques.

▪ *Staphylococcus*



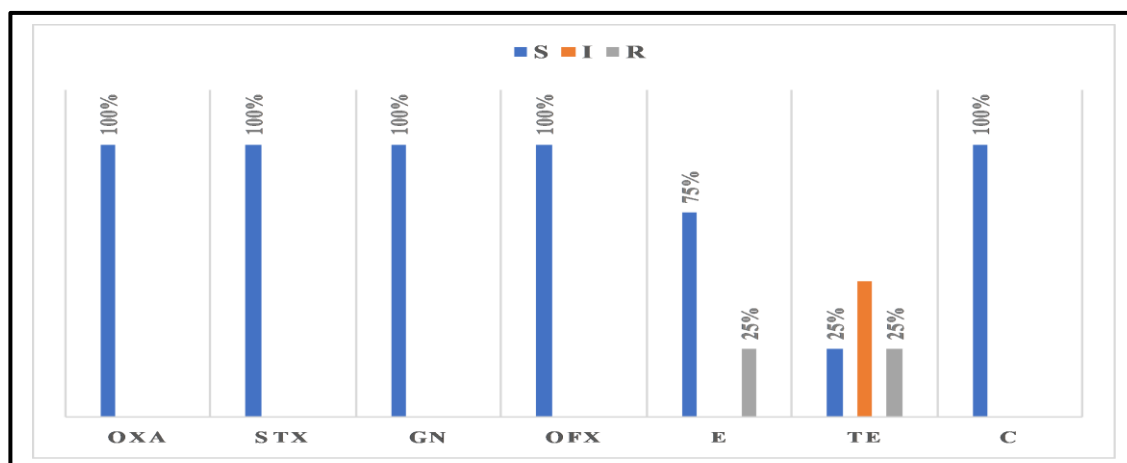
Staphylococcus epidermidis (a)



Staphylococcus xylosus (b)

Figure 2.8 (a , b): Résultats de l'antibiogramme des différentes souches appartenant au genre *Staphylococcus*.

R : Résistant, I : Intermédiaire et S : Sensible
 OXA : Oxacilline, STX : Trimethoprime/sulfamethoxazole, GN : Gentamicine, OFX: Ofloxacine,
 E : Erythromycine, TE : Tetracycline, C : Chloramphénicol.



Staphylococcus aureus

Figure 2.8 (c): Résultats de l’antibiogramme des différentes souches appartenant au genre *Staphylococcus*.

R : Résistant, I : Intermédiaire et S : Sensible

OXA : Oxacilline, STX : Triméthoprime/sulfaméthoxazole, GN : Gentamicine, OFX: Ofloxacine, E : Erythromycine, TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol.

La figure 2.8 montre la sensibilité des souches bactériennes testées envers sept classes d’antibiotique.

▪ *Staphylococcus epidermidis*

Toutes les souches de *Staphylococcus epidermidis* testées ont été résistantes à l’érythromycine. Alors que ces souches ont présenté une résistance de 80%, 60% et 40% envers l’oxacilline, la tétracycline et le sulfaméthoxazole/triméthoprime, respectivement. Tandis qu’elles ont été sensibles à l’ofloxacine et le chloramphénicol.

▪ *Staphylococcus xylosus*

Cette souche a présenté une résistance à l’oxacilline, l’érythromycine, la tétracycline et le sulfaméthoxazole/triméthoprime. Cependant, elle a été sensible à l’ofloxacine, la gentamicine et le chloramphénicol.

▪ *Staphylococcus aureus*

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* ont été sensibles à l’oxacilline, le sulfaméthoxazole/triméthoprime, la gentamicine, l’ofloxacine et le chloramphénicol. Cependant, 25% de ces isolats ont été résistants à l’érythromycine et à la tétracycline.

▪ *Aerococcus viridans*

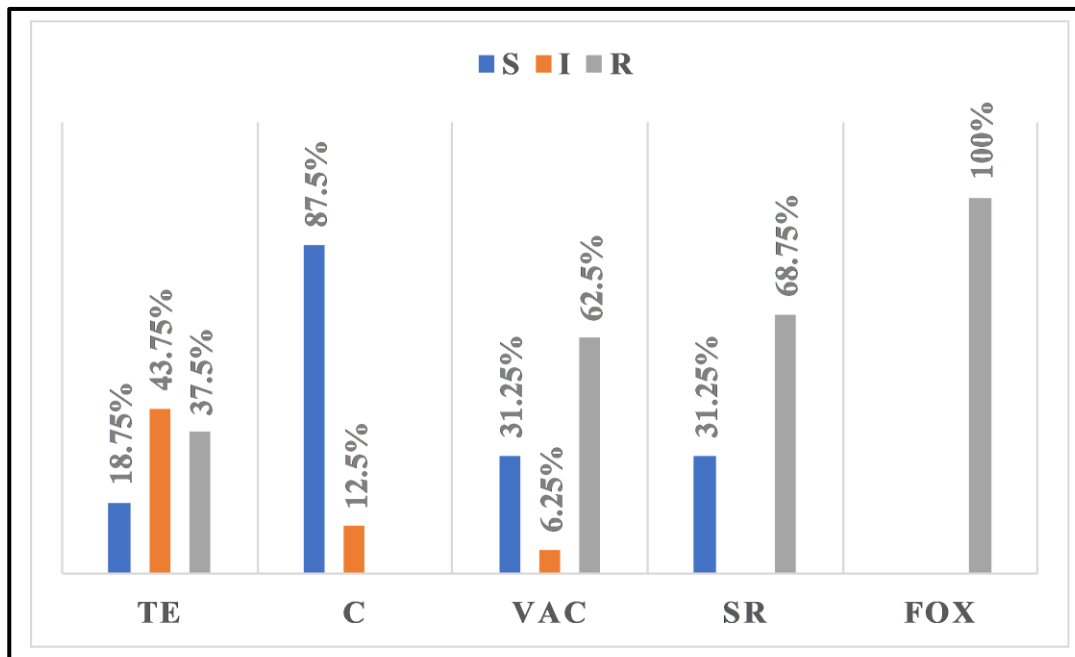


Figure 2.9 : Résultats de l’antibiogramme des différentes souches appartenant au genre *Aerococcus*

R : Résistant, I : Intermédiaire et S : Sensible
 TE : Tétracycline, C : Chloramphénicol, VAC : Vancomycine, SR : Spiramycine, FOX : Cefoxitine.

La figure 2.9 résume les résultats de l’antibiogramme des différentes souches appartenant au genre *Aerococcus*. La totalité des isolats d’*Aerococcus viridans* ont été résistantes à la céfoxitine. Alors que, 68.75% (11/16), 62.5% (10/16) et 37.5% (6/16) des souches testées ont été résistantes à la spiramycine, la vancomycine et la tétracycline, respectivement. Tandis que 87.5% (14/16) des isolats ont manifesté une sensibilité à l’égard du chloramphénicol.

Kaboré et al. (2016) ont montré une résistance des *Aerococcus* à la famille des β -lactamines avec des taux respectifs de 63% et 80% à l’égard de la céfotaxime et l’amoxicilline+l’acide clavulanique, ainsi que vis-à-vis de la spiramycine (famille des macrolides) avec un pourcentage de 63.3%.

▪ **Entérobactéries**

La figure 2.10 résume la sensibilité de la souche de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922) et *Klebsiella oxytoca* vis-à-vis de cinq classes d’antibiotiques.

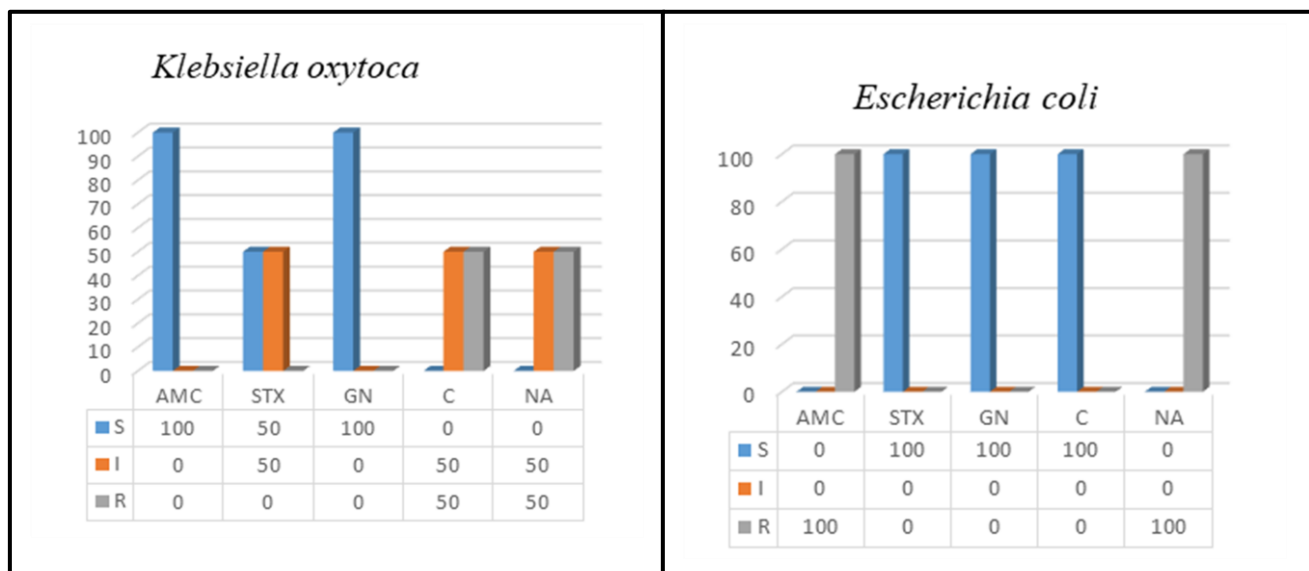


Figure 2.10 : Résultats de l’antibiogramme des différentes souches appartenant aux Entérobactéries

R : Résistant, I : Intermédiaire et S : Sensible

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, STX : Triméthoprime/sulfaméthoxazole, GN : Gentamicine, C : Chloramphénicol, NA : Acide nalidixique.

La souche de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922) testée au cours de cette étude a été résistante seulement à deux classes d’antibiotique (l’amoxicilline + l’acide clavulanique et l’acide nalidixique). Toutefois cette souche a été sensible aux autres antibiotiques.

Concernant *Klebsiella oxytoca*, 50% (1/2) des isolats ont été également résistants à deux classes d’antibiotique (le chloramphénicol et l’acide nalidixique). Alors que 100% de ces souches ont été sensibles à l’amoxicilline + l’acide clavulanique et la gentamycine. Cependant, seulement 50% de ces souches ont été sensibles aux sulfaméthoxazole/triméthoprime.

2.2 Multirésistance

Par définition, la multirésistance bactérienne signifie «la résistance à plus d’un antibiotique ». Cependant, aucune définition standardisée n’a encore été approuvée par la communauté médicale. L’absence de consensus sur la définition de la multirésistance dans les protocoles des études cliniques a donné lieu à des données très difficiles à comparer.

L’une des méthodes les plus employées par divers auteurs et autorités pour caractériser les organismes en tant que multi-résistants est basée sur les résultats des tests *in vitro* de la sensibilité aux antibiotiques, lorsqu’ils testent la résistance à divers agents antimicrobiens (classes ou sous-classes). La définition la plus fréquemment utilisée pour les bactéries à Gram positif et à Gram négatif est « la résistance à trois classes d’antibiotique ou plus » (Magiorakos et al., 2012 ; Selles et al., 2018).

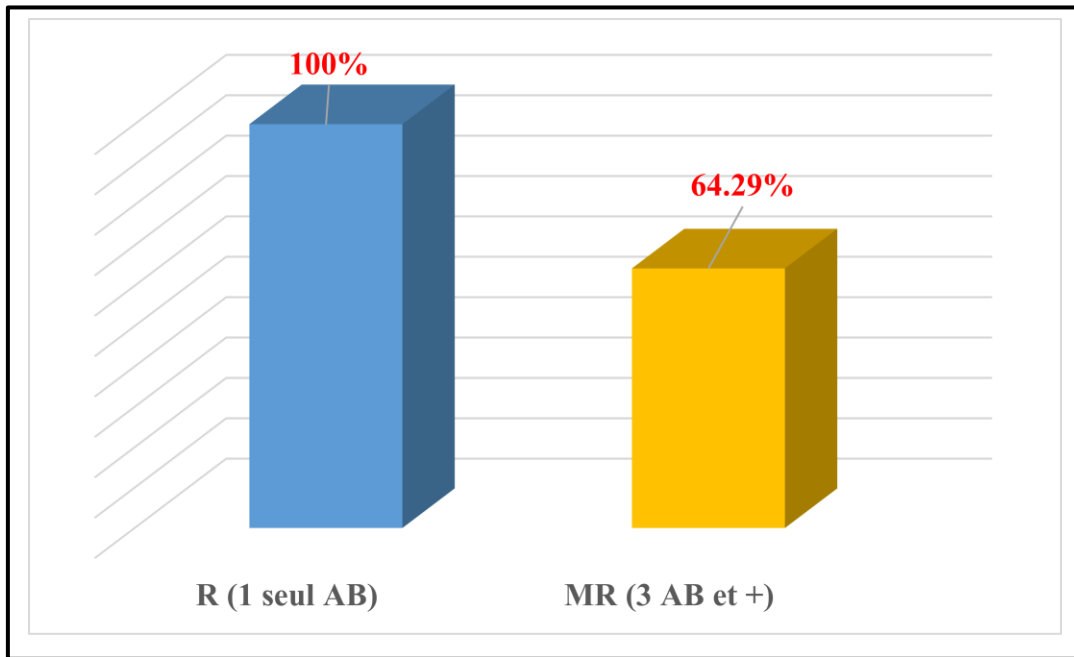


Figure 2.11 : Multirésistance des isolats cliniques étudiés.

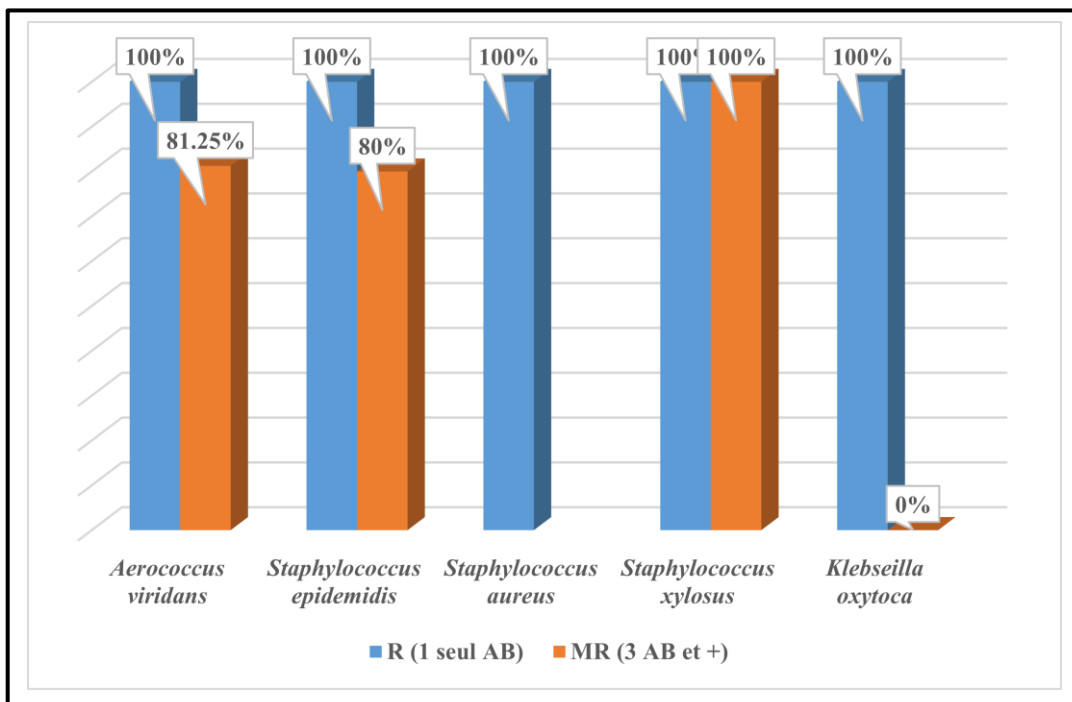


Figure 2.12 : Multirésistance des espèces étudiées.

En se basant sur la définition citée ci-dessus, la figure 2.11 montre que la totalité des isolats testés ont manifesté une résistance à au moins une classe d'antibiotique. Alors que, 64.25% des isolats ont été résistants à 3 classes d'antibiotiques et plus.

En ce qui concerne la résistance des isolats étudiés, la figure 2.12 montre des taux de résistance de 100% envers un seul antibiotique ont été constaté chez l'ensembles des isolats.

Également, des taux de résistance allant de 80 à 100 % pour les souches *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus xylosus* ont été enregistrés envers trois antibiotiques et plus.

Ces taux élevés de résistance et de multirésistance peuvent s'expliquer par :

- Une prescription d'antibiotique sur la base des pathogènes probables issus d'études antérieures (**Teoh et al., 2018**).
- Une prescription inutile d'antibiotique pour des indications cliniques incorrectes (**Al-Haroni et Skaug, 2007 ; Mainjot et al., 2009 ; Segura-Egea, 2010**).

De plus, cette résistance et multirésistance peut être le résultat d'une auto médication et de sur ou sous dosage des antibiotiques.

Partie 2 :
Etude
phytochimique et
activité
antioxydante

1. Huile Essentielle

1.1. Rendement d'extraction

Le tableau ci-dessous montre le rendement moyen (moyenne ± écart type) en huile essentielle calculé en fonction de la matière végétale fraîche de la plante.

Tableau 2.4: Rendement en huile essentielle.

HE <i>Allium sativum</i> L.	
Plante	
<i>Rendement</i>	0.173±0.009%

Le rendement moyen en huile essentielle d'ail obtenu lors de cette étude a été de 0.173±0.009%. L'essence de cette plante est caractérisée par une couleur jaunâtre avec une odeur forte et résistante.

Nos résultats concordent avec ceux retrouvés par **Khan et al. (2017)** où le rendement était de 1.8ml /kg en utilisant une pâte d'ail fraîche après près de 2h d'extraction à une température équivalente à 100°C. Pareillement à **Mnayer et al. (2014)**, **Razavi et al. (2011)** et **Ncir et al. (2020)**, qui ont obtenu un rendement de 1300 à 2000 g/t d'ail. En parallèle, un résultat similaire à celui-ci a été enregistré chez les variétés : nigérienne et turque et qui est de l'ordre de 0.16% et 0.14%, respectivement. Des rendements supérieurs en huile essentielle de l'ordre de 0.32% et 0.4% ont été enregistrés, respectivement, à partir des variétés cultivées au Maroc et en Inde par **Douiri et al. (2013)** et **Lawrence et al. (2011)**. C'est également le cas des deux variétés algériennes et d'une variété italienne où les rendements enregistrés étaient de 0.28±0.09% ; 0.25% ; et 0.30 ± 0.05% (p/p) (**Moumene et al., 2016 ; Cassella et al., 2012**).

L'étude de **Satyal et ses collaborateurs** en (2017) a fait l'objet d'évaluer le rendement en huile essentielle d'ail en utilisant trois méthodes d'extraction, à différentes durées, où les rendements enregistrés étaient de 0.2%, 0.22% et 0.18%, respectivement pour l'hydrodistillation par Clevenger en 3 h, l'hydrodistillation industrielle en 4 h, et la distillation industrielle par entraînement à la vapeur d'eau en 5 h. Un rendement maximal d'environ 0.78% a été enregistré par **Herrera et al. (2021)** en utilisant un équipement d'extraction de type Clevenger où l'opération n'a duré que 2h.

D'ailleurs, l'usage de poudre d'ail déshydratée par différentes manières soit à l'air libre ou au four ou encore lyophilisé avait pour rendement : 0.1%, 0.5% et 0.6% (v/masse sèche), respectivement en utilisant le même équipement d'extraction pendant 3h (**Dziri et al., 2014**), et allant même jusqu'à 0.75% par extraction par fluide supercritique (**Hu et al., 2021**). En

revanche, le rendement le plus inférieur a été enregistré par **Khedri et al. (2010)** en utilisant une variété d’ail qui provient de l’est algérien (0.09%).

Cette différence dans le rendement peut être influencée par la température de l’eau, le temps de distillation et la taille des particules (**Khan et al., 2017 ; Ezeorba et al., 2022**), ainsi que par le séchage du matériel végétal (**Mirahmadi et al., 2017**). En outre, le type de matériel végétal utilisé (**Croteau, 1986 ; Alvarez-Castellanos et Pascual-Villalobos, 2003 ; Hussain et al., 2008 ; Hazrati et al., 2021**), la méthode d’extraction (**Croteau, 1986 ; Alvarez-Castellanos et Pascual-Villalobos, 2003 ; Hussain et al., 2008 ; Hazrati et al., 2021 ; Herrera et al., 2021**) et le séchage du matériel végétal (**Mirahmadi et al., 2017 ; Fokou et al., 2020**).

1.2. Analyse de la composition chimique de l’huile essentielle d’ail

La chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (FID) ainsi que celle en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS) ont permis de mettre au point la présence de quarante-deux composants qui représentaient 100 % de la composition chimique de l’huile essentielle d’*Allium sativum* L. (Tableau 2.5). Le disulfure de diallyle Mw=146 étaient le composant majoritaire de cette HE avec un taux de 39.22% suivi par le trisulfure de diallyle Mw=178 (34.85%), l’isomère de disulfure de diallyle Mw=146 (5.45%), le disulfure d’allyle méthyle Mw=120 (5.20%), le trisulfure d’allyle méthyle Mw=152 (3.75%) et le sulfure de diallyle Mw=114 (3.70%).

Tableau 2.5 : Composition chimique de l’huile essentielle d’ail « *Allium sativum* L. » par CG/MS – CG/FID

Pics	TR (min)	Constituants	%
1	5.49	Allyl mercaptan mw=74	0.13
2	5.95	Ethanol	0.02
3	6.12	Methyl-thiirane mw=74	0.07
4	6.55	Sulfure de methyl-allyle mw=88	0.71
5	8.04	Alpha-pinene	0.01
6	8.94	2-Methyl-4-Pental	0.06
7	9.37	Camphene	0.01
8	9.59	Disulfure de dimethyle mw=94	0.19
9	10.59	2-propen-1-ol	0.03
10	10.67	Composé soufré	0.10
11	10.86	Sulfure de propyl-allyle mw=116	0.03
12	12.51	Sulfure de diallyle mw=114	3.70
13	14.32	Sulfure de diallyle isomere mw=114	0.05

Tableau 2.5 : Composition chimique de l'huile essentielle d'ail « *Allium sativum* L. » par CG/MS – CG/FID (suite)

Pics	TR (min)	Constituants	%
14	14.76	Sulfure de diallyle isomere mw=114	0.05
15	15.41	1.8-Cineole	0.03
16	16.76	Disulfure de methyl-propyle mw=122	0.03
17	17.92	2.4-Dimethyl-Thiophene mw=112	0.01
18	18.55	Disulfure de methyl-allyle isomere mw=120	0.13
19	19.55	Disulfure de methyl-allyle mw=120	5.28
20	20.01	Disulfure de methyl-allyle isomere mw=120	0.44
21	25.58	Trisulfure de dimethyle mw=126	2.34
22	28.78	Tisulfure de propyl-allyle isomere mw=148	0.17
23	29.29	Tisulfure de propyl-allyle isomere mw=148	0.01
24	29.32	Isochrysanthenone	0.02
25	31.04	Disulfure de diallyle isomere mw=146	1.28
26	32.22	Disulfure de diallyle mw=146	39.22
27	32.49	Disulfure de diallyle isomere mw=146	5.45
28	34.10	Camphre	0.05
29	34.62	Composé thiourée	0.99
30	35.02	Trisulfure de methyl-propyle mw=154	0.03
31	38.93	Trisulfure de methyl-allyle mw=152	3.75
32	47.29	Composé mw=180	0.03
33	47.55	3-Vinyl-1.2-Dithiacyclohex-4-ene mw=144	0.31
34	51.02	Trisulfure de diallyle mw=178	34.85
35	53.70	3-Vinyl-1.2-Dithiacyclohex-5-ene mw=144	0.31
36	55.04	Composé mw=166	0.03
37	70.67	Composé alcool	0.01
38	73.93	Composé aromatique	0.01
39	75.29	Eugenol	0.01
40	81.27	Composé soufré	0.02
41	85.62	Composé aromatique	0.01
42	102.97	Acide palmitique	0.04
		Total	100.00

Le profil chimique de l'HE testée dans cette étude est conforme à ce qui a été rapporté dans la littérature sauf la présence des isomères. En effet, l'analyse de l'HE d'*A. sativum* a révélé que les composés contenant du soufre, notamment le disulfure de diallyle, le trisulfure d'allyle et le tétra-sulfure de diallyle, étaient les constituants les plus abondants, et leurs concentrations se situaient dans la fourchette rapportée dans des études antérieures. Ces composés sont bien connus pour leurs propriétés antifongiques, antibactériennes, acaricides, nématocides, antivirales et insecticides (Mnayer et al., 2014 ; Satyal et al., 2017 ; Wang et al., 2019 ; Hosseini et al., 2020).

En examinant les données de la recherche, dans l'ensemble, environ deux à trois composants principaux ont été signalés, y compris DAS, DADS (17.5-38.4%), DATS (23.35-48.24%) ainsi que le trisulfure d'allyle méthyle (7.7-10.4%) (**Dziri et al., 2014 ; Mnayer et al., 2014 ; Guerrero et al., 2019 ; Wang et al., 2019 ; Lin et al., 2022 ; Pereira et al., 2021**).

De même, **Thyu et al. (2020)** ont également aperçu des niveaux élevés de disulfure d'allyle (28.4%), et de trisulfure d'allyle (22.8%), de disulfure d'allyle (E)-1-propényle (8.2%), de trisulfure d'allyle méthyle (6.7%) et de tétrasulfure de diallyle (6.7%).

Plusieurs études antérieures font état de similitudes et de différences entre les principaux composés des huiles essentielles d'ail. **Mnayer et al. (2014)** ont rapporté que l'huile essentielle extraite à partir d'ail acheté dans un supermarché local de la province d'Avignon (France) était dominée par le disulfure de diallyle (37.90%), le trisulfure de diallyle (28.06%), le trisulfure d'allyle méthyle (7.26%), le sulfure de diallyle (6.59%), le tétrasulfure de diallyle (4.14%) et le disulfure d'allyle méthyle (3.69 %). De même, **Sommano et al. (2016)** ont montré que la composition de l'huile essentielle de la variété mexicaine d'*Allium sativum* L. était dominée par : le disulfure de diallyle (42.46%), le disulfure d'allyle méthyle (15.25%), le trisulfure de diallyle (12.52%), le trisulfure d'allyle méthyle (10.36%), le sulfure de diallyle (6.96%), le sulfure de méthylallyle (3.15%) et le tétra-sulfure de diallyle (1.09%). Alors que la composition présentée par **Khadri et al. (2010)** dans leur étude montrant que l'huile essentielle d'ail récoltée dans la région d'El Harrouch à Skikda (Algérie) contient le trisulfure d'allyle méthyle (34.61 %), le disulfure de diallyle (31.65 %), le disulfure d'allyle méthyle (9.27 %), le sulfure de diallyle (6.8 %), le trisulfure de diallyle (1.47 %) et le tétra-sulfure de diallyle (4.92 %) comme composés majoritairement détectés. Les huiles essentielles d'ail des variétés chinoise, tunisienne et égyptienne étaient caractérisées par un profil chromatographique dominé par le trisulfure de diallyle (35.30 % à 50.92 %) et le disulfure de diallyle (27.47 % à 29.10 %) (**Sommano et al., 2016**). Les mêmes auteurs ont rapporté que les composés majeurs de l'huile essentielle d'ail récoltée au Maroc étaient : le trisulfure de di-2-propényle (46.52%), le disulfure de di-2-propényle (14.30%), le trisulfure de méthyle 2-propényle (10.88%) alors que cette huile contient peu de disulfure de diallyle (0.46%) et pas de trisulfure de diallyle (**Sommano et al., 2016**).

Moumene et al. (2016) ont noté que le trisulfure d'allyle et le disulfure de diallyle sont les principaux composants de l'huile essentielle d'ail rouge et blanc cultivées à l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) de la wilaya de Sidi Bel Abbès avec des pourcentages variables pour chaque plante.

Satyral et al. (2017) ont donné la composition chimique de l'huile essentielle d'*Allium sativum* L. collectée en Espagne et extraite par trois méthodes différentes, à savoir l'hydrodistillation de type Clevenger, la distillation industrielle à la vapeur et l'hydrodistillation industrielle. Ces auteurs ont noté que le profil chromatographique de cette huile était dominé par le trisulfure de diallyle, le disulfure de diallyle, le trisulfure d'allyle méthyle et le disulfure d'allyle méthyle pour la technique d'hydrodistillation de type Clevenger et d'hydrodistillation industrielle avec des concentrations variables. Alors que le disulfure de diallyle suivi du trisulfure d'allyle méthyle, du diallyl le trisulfure et le disulfure d'allyle méthyle sont les principaux composés de cette huile essentielle extraite par distillation industrielle à la vapeur.

Plusieurs autres rapports ont montré que l'huile essentielle des bulbes d'ail contient environ 10-18 composants qui sont comparativement plus faibles que ceux trouvés dans notre enquête (**Kiralan et al., 2012 ; Dziri et al., 2013 ; Ghassemi et Raei, 2021**). Contrairement à notre étude, le principal constituant dans ces études était le trisulfure de diallyle allant de 24.23% à 50.43%, suivi par le disulfure de diallyle avec une concentration de 19.87% 25.30% (**Zhao, 2013 ; Dziri et al., 2014 ; Zabihi et al., 2017 ; Bedini et al., 2020**).

Cependant, il existe une variation considérable dans la composition chimique de l'huile essentielle d'ail. Par exemple, les principaux composants rapportés dans l'étude de **Kiralan et al. (2012)** et **Ghassemi et Raei (2021)** étaient le trisulfure de di-2-propényle, le disulfure de méthyl-2-propényle, le sulfure de diallyle et le trisulfure de méthyl-2-propényle.

Toutefois, **Martinez et al. (2011)** et **Kocic-Tanackov et al. (2012)** ont enregistré la présence du 1,2-dithiolane (3.12%), le disulfure d'allyle méthyle (3.07%), le 1,3-dithiane (2.12%) et le trisulfure d'allyle méthyle (2.08-11.28%) en plus du trisulfure de diallyle, disulfure de diallyle, le sulfure de diallyle, le tétrasulfure de diallyle.

La variété marocaine contenait du tétradécane a forte concentration à côté du diallyl disulfure, de diallyl tétra-sulfure, de disulfure, de bis (1,1- diméthylpropyle) et de l'acide oléique (4.95-11.50%) (**Othman et al., 2020**).

De même, **Behbahani et Fooladi (2017)** ont noté la présence du 5-chloroacétaldéhyde comme principal composé (45.6%), suivi du disulfure de méthylthiométhyle (28.2%), du pentiophène (5.4%), du tricosane (5.2%), du trisulfure de diméthyle (4.5%), du carvacrol (1.2%) et du thymol (0.5%). Cependant, l'étude de **Shalaby et al. (2011)** a révélé la dominance du disulfure de di-2-propényle (25.18%), du trisulfure de méthyl-2-propényle (23.8%) et du trisulfure de di-2-propényle (21.05%).

Les HEs représentent une fraction mineure de l'arrangement globale des plantes aromatiques (moins de 5% de la matière sèche végétale). En effet, plusieurs facteurs pourraient influencer leur composition y compris ; les facteurs édaphiques (la variation génétique,

l'écotype, l'emplacement géographique, l'application d'engrais, le climat, le stress pendant la croissance, la culture, et la fertilisation, la récolte et la pré-distillation, saison de la récolte, prétraitement de la biomasse et les conditions de stockage de la matière végétale d'origine) (Nazzaro *et al.*, 2017 ; Sestelo et Carrillo, 2020 ; Koderá *et al.*, 2020 ; Yamaguchi et Kumagai, 2020). De plus, la température de l'eau, la durée d'extraction, et la surface de contact (tailles des particules) sont des facteurs affectant la composition chimique pendant l'hydrodistillation. (Croteau, 1986 ; Alvarez-Castellanos et Pascual-Villalobos, 2003 ; Hussain *et al.*, 2008 ; Fokou *et al.*, 2020 ; Hazrati *et al.*, 2021). De même, les solvants de différentes polarités extraient différents groupes de composés (Cowan, 1999). Additionnellement, les proportions relatives de sulfides dans la composition chimique de cette HE varient en fonction de la température et de la durée d'extraction, ou des deux à la fois (Zhao, 2013). En plus, Touihri *et al.* (2015) ont montré que les conditions climatiques et géographiques influencent la teneur en composés majoritaires de l'HE.

Cependant, afin d'obtenir une HE de composition constante, il faut l'extraire dans les mêmes conditions voire à partir du même organe, poussé sur le même sol, sous le même climat et qui a été cueillie pendant la même saison (Sestelo et Carrillo, 2020).

1.3. Activité antioxydante de l'huile essentielle d'ail

L'évaluation idéale et complète des propriétés antioxydantes de l'huile essentielle ne peut se réaliser sans l'association de différentes techniques et mécanismes qui aboutiront à un des résultats efficaces des potentiels antioxydants. Deux méthodes sont employées : le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur FRAP.

Les différents tests ont été menés sur l'huile essentielle d'ail et des standards et à différentes concentrations. Les EC₅₀ et les IC₅₀ calculées sont rapportées dans le tableau 2.6.

Pour le test du pouvoir réducteur, une faible EC₅₀ correspond à une forte capacité réductrice (Chang *et al.*, 2007). De même, dans les tests aux DPPH un faible IC₅₀ indique une meilleure capacité de piégeage des radicaux libres (Lim et Tee, 2007).

Tableau 2.6 : Résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'ail et des molécules de référence.

	Pouvoir réducteur (EC ₅₀) mg/ml	DPPH (IC ₅₀) mg/ml
Quercetine	24.62 ± 1.95 X 10 ^{-3a}	8.52± 0.52 X 10 ^{-3a}
Acide Gallique	-	12.86 ± 3.37 X 10 ^{-3a}
Acide Ascorbique	53.31 ± 0.21 X 10 ^{-3a}	8.39± 0.24 X 10 ^{-3a}
HE <i>Allium sativum</i> L.	6.54 ± 0.63 ^b	51.12 ± 11.77 ^b

Chaque valeur du tableau est représentée sous forme de moyenne ± SD (n = 3). Les moyennes ne partageant pas la même lettre sont significativement différentes (LSD) au niveau de probabilité P <0,05 dans chaque colonne

Les valeurs de l'EC₅₀ et de l'IC₅₀ de l'huile essentielle d'*Allium sativum* L. étaient respectivement de 6.54±0.63 mg/ml et de 51.12±11.77 mg/ml. Ces valeurs sont très élevées par rapport aux molécules standards (tableau 2.6).

Toutefois, la comparaison de nos résultats de l'huile essentielle d'ail à ceux de l'acide ascorbique nous permet de conclure qu'elles représentent un pouvoir antioxydant plus faible que celui de la molécule standard.

Ndoye Foe et al. (2016) ont rapporté que l'EC₅₀ de l'huile essentielle d'*Allium sativum* était de 5.33±0.01 µg AAE/mg. Cette valeur est 1000 fois plus faible que celle enregistrée dans cette étude.

La plupart des études ont démontré une faible IC₅₀ par rapport à celle obtenue dans la présente étude, y allant de 0.5 mg/ml à 7.67 mg/ml (**Lawrence et al., 2011 ; Mnayer et al., 2014 ; Herrera-Calderon et al., 2021**).

De même, **Akinyemi et al. (2018)** ont observé une différence significative dans la capacité de piégeage des radicaux libres DPPH entre l'huile essentielle d'ail (IC₅₀ = 24.8 µg/ml) et l'acide ascorbique (IC₅₀ = 61.5 µg/ml).

L'activité antioxydante de l'ail est due à sa richesse en composés sulfurés qui représentent les principaux constituants de cette huile essentielle (**Mnayer et al., 2014**). Dans la présente étude, les principaux composés de l'huile essentielle d'*Allium sativum* étaient le disulfure de diallyle (39.22%) suivi du trisulfure de diallyle (34.85%). Cependant, l'isomère du disulfure de diallyle, le disulfure d'allyle et de méthyle, le trisulfure d'allyle et de méthyle et le sulfure de diallyle étaient présents en faibles quantités. Bien que la présence du disulfure de diallyle et du trisulfure de diallyle dans l'huile d'ail brise la chaîne des radicaux libres par le

don d'atomes d'hydrogène qui neutralisent les radicaux DPPH et augmentent par conséquent l'activité antioxydante (**Dewi et al., 2017**).

Selon **Amorati et al. (2008 et 2013)** qui ont constaté que le disulfure de diallyle et le méthyl sulfure d'allyle n'ont pas d'activité antioxydante en tant qu'inhibiteurs de l'auto-oxydation contrôlée de l'isopropylbenzène ou du styrène. Ces mêmes auteurs ont suggéré que ces composés sont oxydés avec le substrat. Néanmoins, l'ail soluble dans l'eau a une activité antioxydante supérieure à celle de l'huile d'ail parce que l'ail soluble dans l'eau contient du N-acétylcystéine, un dérivé de l'acide aminé L-cystéine qui a l'activité antioxydante la plus élevée parmi les composés organo-sulfurés. En outre, des études antérieures ont montré que l'ail contient des composés organo-sulfurés, des flavonoïdes et des polyphénols stables et que les composés phénoliques sont des antioxydants plus efficaces que les composés non phénoliques tels que le sulfure d'allyle (**Dewi et al., 2017**).

Partie 3 :
Etude
De l'activité
antimicrobienne

1. Activité antibactérienne des huiles essentielles

1.1 Technique de diffusion sur disque

Parmi les 35 souches isolées des caries dentaires appartenant aux différents genres bactériens, le test de sensibilité a été réalisé sur neufs isolats bactériens multirésistants (Résistant à plus de trois classes d'antibiotiques) et une souche de références.

Les diamètres des zones d'inhibition des souches étudiées sous l'action de l'huile essentielle d'ail sont représentés dans le tableau 2.7.

Tableau 2.7 : Halos d'inhibition en (mm) (moyenne ± écart type) provoqués par l'huile essentielle testée.

Isolats	Diamètre d'inhibition*	Appréciation
<i>Aerococcus viridans</i> 1	9±1.63	Sensible
<i>Aerococcus viridans</i> 2	7±0	Résistant
<i>Aerococcus viridans</i> 3	8±0	Résistant
<i>Aerococcus viridans</i> 4	7.33±0.57	Résistant
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14.33±1.15	Sensible
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	45±0	Extrêmement sensible
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	AZD	Résistant
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	AZD	Résistant
<i>Staphylococcus xylosus</i>	15.66±0.58	Très sensible
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	16±1	Très sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition.

AZD : Aucune zone d'inhibition

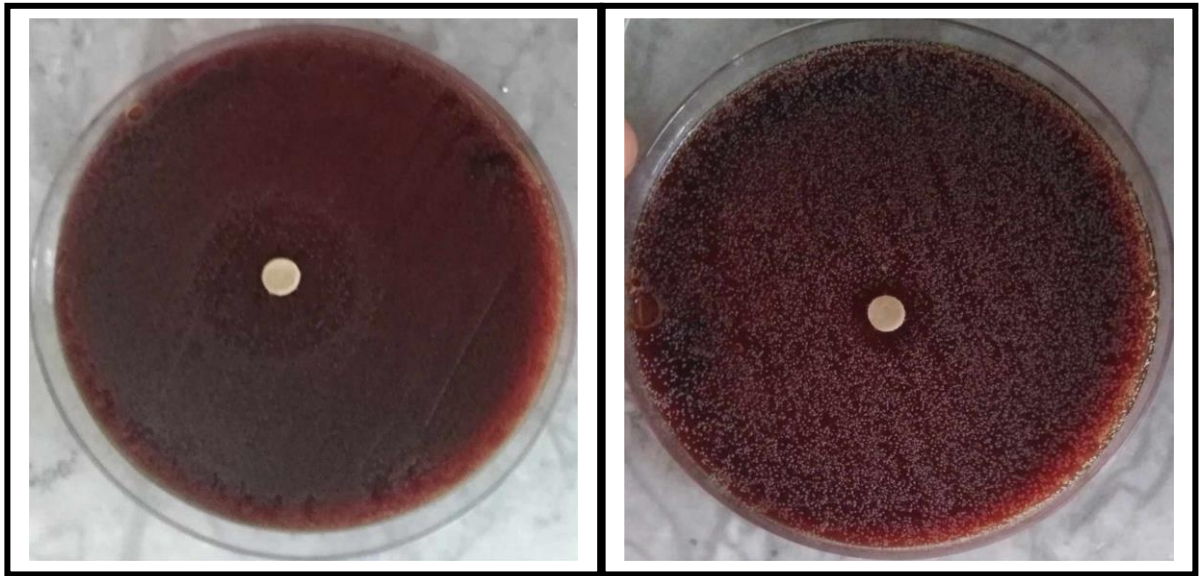


Figure 2.13: Effet de l'HE de *Allium sativum* L. sur *Aerococcus viridans*

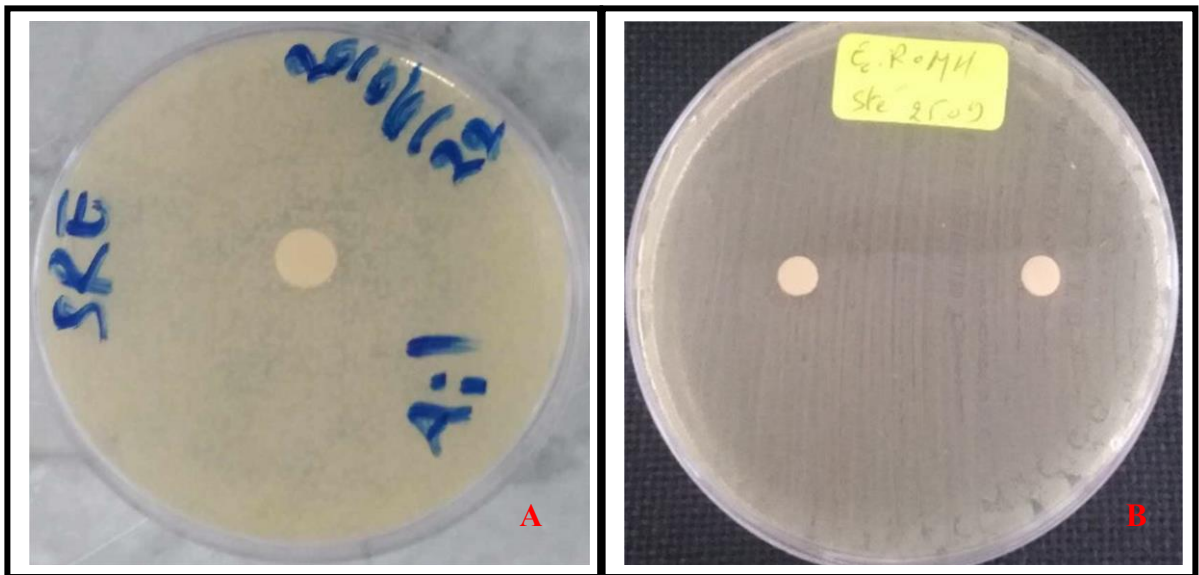


Figure 2.14: Effet de l'HE de *Allium sativum* L. sur **A** : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et **B** : *E. coli* ATCC 25922.

Les résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle d'ail a exercé un effet inhibiteur vis-à-vis de quelques souches testées avec des zones d'inhibition allant de 9 à 45mm. La zone d'inhibition la plus élevée a été constatée à l'égard de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 avec un diamètre de 16mm suivie par celui observé vis-à-vis de *Staphylococcus xylosus* (15.66 mm).

Cependant, un halo de 14.33mm a été enregistré contre *Staphylococcus epidermidis*. Toutefois, une seule souche d'*Aerococcus viridans* a été sensible à cette HE avec une zone d'inhibition de 9mm.

En se basant sur l'étude de **Ponce et al. (2003)**, les résultats de la présente étude nous ont permis d'obtenir une souche de *Staphylococcus epidermidis* et d'*Aerococcus viridans* sensibles à l'HE d'*A. sativum*. En revanche, une souche de *Staphylococcus xylosum* et une autre souche de *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ont été classés comme très sensibles à cette huile (tableau 2.7). Alors qu'un isolat de *Staphylococcus epidermidis* a été révélé comme extrêmement sensible. Tandis que, cinq autres isolats (3 *Aerococcus viridans* et 2 *Staphylococcus epidermidis*) ont été résistantes à cette HE.

Plusieurs études ont montré une activité antibactérienne de l'HE d'*A. sativum* à l'égard de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition allant de 12 à 20 mm (**Chekki et al., 2014 ; Mnayer et al., 2014 ; Chekroud et al., 2019**).

Alors que des diamètres d'inhibition de 10.2mm, 11mm et 11.5mm pour des concentrations respectives de 5%, 10% et 15% d'HE d'*A. sativum* L. contre *Staphylococcus aureus* ont été enregistrés par **Pratama et Perangin-angin (2022)**. De même, **Moumene et al. (2016)** ont rapporté que cette espèce manifeste une sensibilité envers l'HE d'*A. sativum in-vitro* avec un diamètre d'inhibition allant de 9 à 11mm.

Benkeblia (2004) a noté une faible inhibition à l'égard de *Staphylococcus aureus* avec des halos variant de 6.3 à 9.3 mm en utilisant différentes concentrations d'HE d'ail allant de 50 à 500 ml/l. Cependant, une zone d'inhibition complète de 90 mm contre *Staphylococcus aureus* exercée par l'HE d'*A. sativum* a été démontrée par **Torpol et al. (2018)**.

L'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle d'*A. sativum* est due à sa richesse en composés organo-sulfurés (**Torpol et al., 2018**). **Bhatwalkar et al. (2021)** rapportent « deux principaux mécanismes d'action des composés organo-sulfurés de l'ail :

(1) la réaction des composés de l'ail au groupe sulfhydryle libre sur les protéines et/ou les enzymes pour les inactiver **Bhatwalkar et al. (2021)**.

(2) la perturbation de la composition et de l'intégrité de la membrane cellulaire bactérienne et/ou de la paroi cellulaire » **Bhatwalkar et al. (2021)**.

En outre, certains travaux suggèrent que les composés de l'ail pourraient également avoir un effet global sur la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines » **Bhatwalkar et al. (2021)**.

1.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB)

L'huile essentielle de l'*A. sativum* a été testée par la méthode de dilution en milieu liquide (micro-dilution) sur 4 isolats cliniques des personnes souffrant de carie dentaire et deux souches de références (*E. coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538). Les CMI et les CMB des huiles essentielles étudiées sont présentées dans le tableau 2.8.

Tableau 2.8: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) mg/ml (n =3).

ISOLATS	CMI	CMB
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9.5	>9.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9.5	>9.5
<i>Staphylococcus xylosus</i>	9.5	>9.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	>9.5	>9.5
<i>Aerococcus viridans</i>	9.5	>9.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	>9.5	>9.5

Une concentration minimale inhibitrice d'une valeur de 9.5 mg/ml a été constatée pour inhiber la croissance de quatre isolats testés (2 isolats de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* et *Aerococcus viridans*). Cependant, des valeurs supérieures à 9.5mg/ml sont nécessaires pour inhiber la croissance des deux souches de références (*E. coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

Nos résultats sont en accord avec ceux des études précédentes où les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif. Selon **Trinetta et al. (2017)** cela est dû à la barrière protectrice créée par les lipopolysaccharides membranaires à caractère hydrophile contre les composés hydrophobes des huiles essentielles.

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'ail est dû à la présence des différents groupements sulfure qui endommage les cellules microbiennes en réagissant avec le groupe sulfodryle (SH) des protéines cellulaires pour générer des disulfures mixtes (**Kyung, 2012**), inhiber les enzymes thiol protéases et l'enzyme alcool déshydrogénase (**Hyldgaard et al., 2012 ; Martins et al., 2016**).

2. Activité antifongique

2.1 Détermination de la sensibilité

Les observations effectuées sur l'effet de l'HE d'*Allium sativum* L. sur la croissance des isolats de *Candida* testées et une souche de référence (*Candida albicans* ATCC 25923) sont représentées dans le tableau 2.9 et les figures 2.15 et 2.16.

Tableau 2.9: Halos d'inhibition en (mm) provoqués par l'huile essentielle testée.

<i>Isolats</i>	<i>Diamètre d'inhibition</i>
<i>Candida albicans 1</i>	>85
<i>Candida albicans 2</i>	>85
<i>Candida albicans 3</i>	>85
<i>Candida albicans 4</i>	>85
<i>Candida albicans 5</i>	>85
<i>Candida albicans 6</i>	>85
<i>Candida albicans ATCC 25923</i>	>85

La sensibilité des espèces fongiques à l'HE d'*A. sativum* a été déterminée selon le diamètre d'halo d'inhibition par la technique de diffusion sur gélose. Les résultats de ce test cités dans le tableau ci-dessus montrent l'efficacité de l'huile essentielle d'ail sur les isolats cliniques de *Candida albicans* ainsi que sur la souche de référence utilisée avec des zones d'inhibition indéterminée (>85mm), respectivement. Après 48 h d'incubation, aucune colonie n'a poussé sur les différentes boîtes de Pétriensemencées en présence de disque imbibé de 5µl (4.25 mg) d'huile essentielle d'ail en comparaison avec les boîtes témoins qui sont toutes couvertes de colonies.

L'huile essentielle d'*Allium sativum* a prouvé une bonne activité antifongique contre les 6 souches de *C. albicans* ainsi que la souche de référence en comparaison avec son activité antibactérienne.

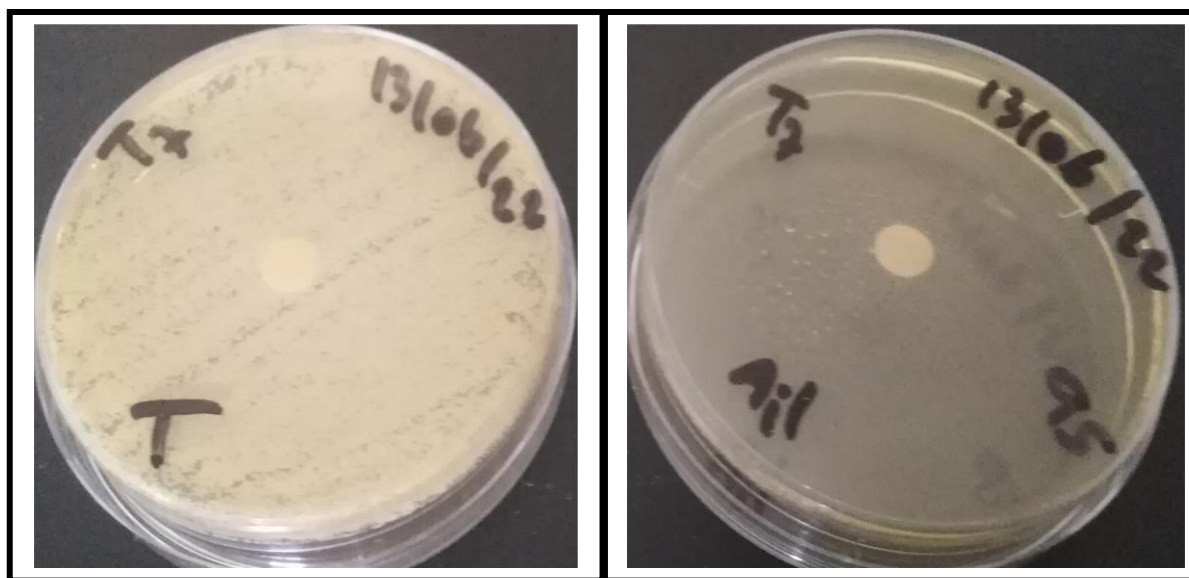


Figure 2.15: Résultat du test de sensibilité de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis d'un isolat clinique de *C. albicans*

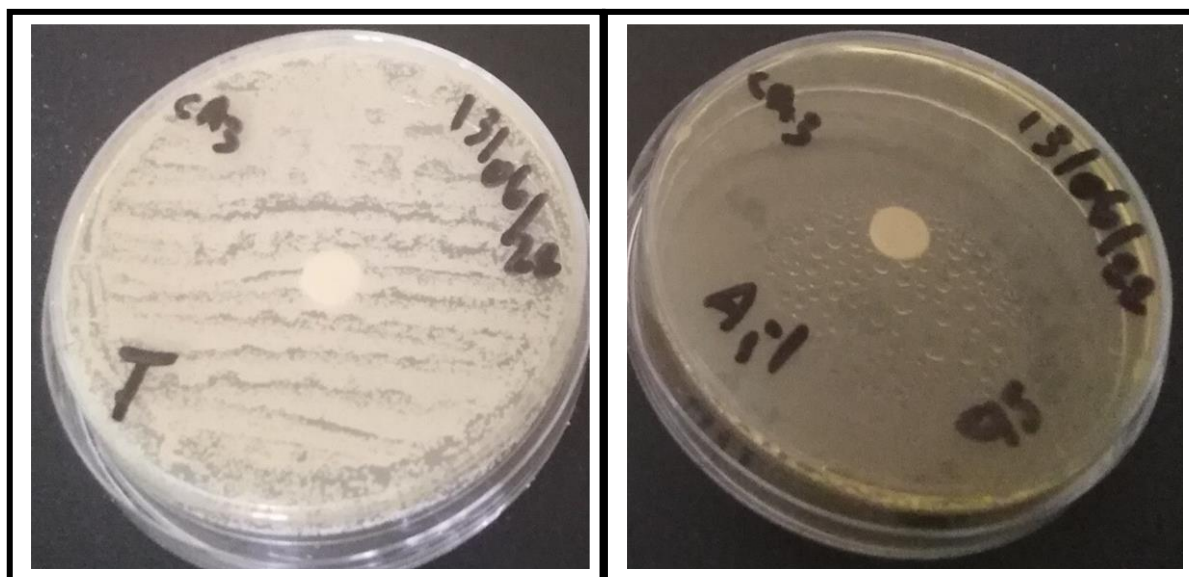


Figure 2.16: Résultat du test de sensibilité de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis de *C. albicans* ATCC 25923.

Une bonne activité antifongique de l'HE d'ail a été exercé vis-à-vis des souches de *Candida albicans* en comparaison a d'autres HEs (thym, Aloé vera, cannelle) après 24h d'incubation. Celle-ci a été traduite par un diamètre d'inhibition de 80mm (ou 8cm) (Sadeghi et al., 2016). Cependant, cette espèce était moins sensible selon les résultats de Ashraf et al. (2019) et Mahmoud et al. (2020) où le diamètre d'inhibition mesure 18.1mm et 42mm, respectivement.

L'étude de **Sadeghi et al. (2016)** a montré une bonne activité antifongique vis-à-vis des *C. albicans*. Cela peut être attribué aux composés soufrés contenus dans l'huile essentielle d'ail. Ces derniers ont montré un pouvoir inhibiteur des enzymes (**Beuchat, 1989**) qui influence par la suite la synthèse des acides gras, des lipides et des molécules d'ADN et d'ARN.

2.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'HE d'*A. sativum* L. a été testée par la méthode de dilution en milieu liquide (micro-dilution) sur 6 isolats cliniques de *Candida albicans* associés aux caries dentaires humaines et une souche de référence. Les CMI et les CMF obtenues sont présentées dans le tableau 2.15.

Tableau 2.10 : Les CMI et CMF testées de l'HE d'*A. sativum* nécessaires pour l'inhibition totale de la croissance fongique *in-vitro* en µg/ml (n=3).

Isolats	CMI	CMF	CMF/CMI
<i>Candida albicans 1</i>	593.75	593.75	1
<i>Candida albicans 2</i>	296.875	296.875	1
<i>Candida albicans 3</i>	593.75	593.75	1
<i>Candida albicans 4</i>	593.75	593.75	1
<i>Candida albicans 5</i>	296.875	296.875	1
<i>Candida albicans 6</i>	296.875	296.875	1
<i>Candida albicans ATCC 25923</i>	296.875	296.875	1

Le tableau ci-dessus montre les résultats de l'activité antifongique de l'HE d'*A. sativum*. Cette dernière a exercé une forte activité antifongique. La concentration 593.75µg.ml⁻¹ a été suffisante pour inhiber la croissance de 3 souches de *Candida albicans* bien qu'une concentration plus faible de l'ordre de 296.875µg/ml était suffisante pour l'inhibition des 3 autres isolats de *Candida albicans* en plus de la souche standard.

Nos résultats concordent avec ceux présentés dans l'étude de **Li et ses collaborateurs (2016)** où l'HE d'ail a exercé une forte activité antifongique avec une CMI de l'ordre de 0.35 µg/mL vis-à-vis des souches de *Candida albicans*. Des résultats similaires ont été cités par **Mirabadi et al. (2019)** où la détermination de la CMI et de la CMF s'est faite par la même technique sur différentes souches de *Candida*. En Comparant les résultats obtenus, le *Candida albicans* était le plus sensible à cette huile avec des faible CMI et CMF a raison de 0.4µg/ml et

0.7µg/ml, respectivement. De même, une bonne activité fongistatique a été exercée par l'HE d'*A. sativum* contre les souches de *C. albicans* référencées (**Figueira et al., 2023**).

Par ailleurs, **Mendoza-Juache et al. (2017)** ont rapporté que les isolats cliniques de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei* isolées des prothèses dentaires étaient plus sensibles à l'huile essentielle d'*A. sativum* par rapport au fluconazole, tant dans les formes planctoniques que dans les biofilms.

En revanche, les résultats de la CMI ainsi que de la CMF mentionnés dans l'étude conduite par **Bedini et al. (2020)** étaient supérieurs aux résultats des études précédentes et qui étaient de l'ordre de 1 µl/ml et 5 µl/ml, respectivement.

Le *Candida albicans* est l'espèce pathogène la plus agressive du genre *Candida*. Elle est fréquemment rencontrée et à l'origine des infections de la muqueuse buccale. A l'heure actuelle, plusieurs études rapportent l'échec et la résistance aux traitements de plusieurs formulations médicamenteuses antifongiques (**Morschhäuser, 2002**). Ce qui remet en cause le caractère chronique et aiguë ou parfois récidive de la maladie. La prolongation de ces traitements emmène à des effets secondaires, ce qui oblige à limiter l'usage de telles substances (**Pa, 2002**).

A cet égard, les chercheurs ont fait recours aux huiles essentielles, qui ont été utilisés avec succès pour inhiber la croissance fongique (**Rahimi et al., 2014**). Particulièrement, l'huile essentielle qui possède un potentiel antifongique grâce à ses composés soufrés tels que le diallyl sulphide et le methyl allyl disulfide, qui peuvent fendre la couche externe des lipopolysaccharides fongiques et bactériens, suivi de la dégradation de la membrane externe et une fuite cytoplasmique (**Ezeorba et al., 2022**). Les azolés ont une toxicité sélective contre les champignons car ils interfèrent avec la synthèse de l'ergostérol, un stérol unique dans la membrane fongique, et n'affectent pas la membrane cellulaire. La cible des traitements antifongiques est bien l'ergostérol de la membrane plasmique fongique. La résistance du *Candida* au traitement est généralement la conséquence du remplacement de l'ergostérol par une molécule précurseur ou d'une réduction générale du stérol dans la membrane plasmique (**Pârvu et al., 2019**).

En outre, l'huile essentielle d'ail avait un effet antifongique dépendant du temps et de la dose sur les cellules de *C. albicans*. Les huiles essentielles ont la capacité de s'intégrer à la membrane cytoplasmique grâce à leurs caractère lipophilie (**Rassoli et Owlia, 2005 ; Nogueira et al., 2010**). De ce fait, les membranes des organites cellulaires seront ainsi endommagées après traitement à l'huile essentielle telles que les mitochondries et les vacuoles menant à la mort cellulaire (**Li et al., 2016**).

Pareillement, l'expression génétique de *C. albicans* a été sévèrement altérée par le traitement à l'huile essentielle d'*A. sativum*, notamment les gènes critiques liés à la réponse aux médicaments, au système génétique impliqués dans les processus d'oxydation-réduction essentiels aux processus biochimiques *in-vivo*, avec des fonctions de régulation essentielles pour la transduction des signaux cellulaires et la transcription des gènes, à l'expression des gènes différenciellement liés à la pathogenèse et qui sont associées à la phosphorylation oxydative, au cycle cellulaire, au traitement des protéines dans le réticulum endoplasmique, au métabolisme de la pyrimidine, à la méiose, au transport de l'ARN, à la biogenèse des ribosomes et à la dégradation de l'ARN. De nombreuses protéines sont éliminées ce qui a entraîné des perturbations importantes du métabolisme cellulaire normal et des fonctions physiques de *C. albicans* (Li et al., 2016).

De plus, des analyses de cytotoxicité qui peuvent contribuer encore plus au domaine de la dentisterie et aux études impliquant des infections buccales par *Candida* spp. ont été réalisées pour garantir l'usage de l'HE (Li et al., 2016). L'ail étant non chimique, non synthétique, sans effet indésirable et riche en composés bioactifs dont l'allicine, il peut être utilisé comme une bonne alternative pour soulager les différentes pathologies fongiques buccales (Sasi et al., 2021).

D'après nos résultats, le rapport CMF/CMI a été de 1 pour tous les isolats cliniques et la souche de référence (inférieur à 4). En se référant à Cutler et al. (1994), l'HE d'*A. sativum* a un pouvoir fongicide vis-à-vis de ces souches fongiques testées.

*Conclusion et
perspectives*

La présente étude a permis d'isoler des bactéries susceptibles de provoquer l'apparition des caries dentaires et de tester leur sensibilité envers de multiples familles d'antibiotiques pour en déterminer le taux de multirésistance et de procurer par la suite un moyen naturel pour les contrôler.

La fréquence d'isolement des genres ciblés a concerné majoritairement *A. viridans*, à raison de (45.71%), dans le même contexte, des taux de (17.14%, 14.29%, 11.29%, 5.71%) sont enregistrés pour les espèces *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella* respectivement.

Une multirésistance remarquable à l'égard de plusieurs classes d'antibiotiques a été enregistrée avec des taux allant de 50 à 100% en fonction des isolats.

L'analyse de l'HE d'*A. sativum* L. a révélé que le disulfure de diallyle était le composant majoritairement enregistré avec un taux de 39.22% suivi par le trisulfure de diallyle (34.85%), de l'isomère de disulfure de diallyle (5.45%), le disulfure d'allyle méthyle (5.20%), le trisulfure d'allyle méthyle (3.75%) et le sulfure de diallyle (3.70%).

Pour ce qui est de l'activité antioxydante, les résultats étaient plus mitigés. En effet, la comparaison de nos résultats de l'HE d'ail à ceux de l'acide ascorbique nous a permis de conclure qu'elle représente un pouvoir antioxydant plus faible que celui de la molécule standard. L'essai de piégeage des radicaux DPPH a révélé une concentration inhibitrice médiane (IC50) de 51.12 ± 11.77 mg/ml, tandis que l'essai du pouvoir réducteur ferrique a enregistré une concentration efficace médiane (EC50) de 6.54 ± 0.63 mg/ml.

De même, pour l'activité antimicrobienne, l'huile essentielle d'*A. sativum* a exercé une activité fongicide vis-à-vis de *Candida albicans* avec une CMF allant de 296.875 à 593.75 µg/ml. Cependant, cette huile essentielle avait un effet bactériostatique à l'égard des bactéries isolées des caries dentaires.

Ces résultats peuvent fournir une base utile concernant les effets thérapeutiques présumés des HEs d'ail pouvant appuyer leur application comme traitement alternatif. Cependant, d'autres investigations *in vitro* sur des sites différents de la cavité buccale confortées par des essais cliniques *in vivo* seraient nécessaires pour justifier l'utilisation potentielle de ces huiles essentielles comme agents thérapeutiques pour le contrôle des caries dentaires.

Références

Bibliographiques

A

1. Aas, J. A., Dardis, S. R., Griffen, A. L., Stokes, L. N., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., Leys, E. J., Paster, B. J. (2003). Molecular analysis of bacteria associated with caries in permanent teeth. *J Dent Res*, 83.
2. Aas, J. A., Griffen, A. L., Dardis, S. R., Lee, A. M., Olsen, I., Dewhirst, F. E., Dewhirst, F. E., Leys, E. J., Paster, B. J. (2008). Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *Journal of clinical microbiology*, 46(4), 1407-1417.
3. Abdelkarim-Elafifi, H., Parada-Avenidaño, I., Arnabat-Dominguez, J. (2021). Photodynamic therapy in Endodontics: a helpful tool to combat antibiotic resistance? A literature review. *Antibiotics*, 10(9), 1106.
4. Abranches, J., Miller, J. H., Martinez, A. R., Simpson-Haidaris, P. J., Burne, R. A., Lemos, J. A. (2011). The collagen-binding protein Cnm is required for *Streptococcus mutans* adherence to and intracellular invasion of human coronary artery endothelial cells. *Infection and immunity*, 79(6), 2277-2284.
5. Abushaheen, M. A., Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A.A., Shaik J. Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971.
6. Adoubryn, K. D., N’Gattia, V. K., Kouadio-Yapo, G. C., Nigué, L., Zika, D. K., Ouhon, J. (2014). Épidémiologie des otomycoses au centre hospitalier et universitaire de Yopougon (Abidjan-Côte d’Ivoire). *Journal de Mycologie Médicale*, 24(2), e9-e15.
7. AFNOR. 2000. Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles.
8. Ak, T., Gülçin, I. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-biological interactions*, 174(1), 27-37.
9. Akinyemi, A. J., Faboya, L., Awonegan, A., Olayide, I., Anadozie, S., and Oluwasola, T. (2018). Antioxidant and anti-Acetylcholinesterase activities of essential oils from garlic (*Allium sativum*) Bulbs. *Int. J. Plant Res*, 31.
10. Al Maghlouth A, Al Yousef Y, Al Bagieh N (2004) Qualitative and quantitative analysis of bacterial aerosols. *J Contemp Dent Pract*,5: 91–100.
11. Alali, A. M., Al Maraghi, N. M., Electricwala, Q. Y., Dashti, A. A. (2021). Oral hygiene habits and storage method impact on toothbrush contamination among participants in Kuwait. *KUWAIT MEDICAL JOURNAL*, 53(4), 421-428.
12. Al-Ghurabi, B. H., Ghaib, N. H., Abbas, A. A., Al-Musawi, B. K., Hassain, N. S., et Al-Ghurabi, Z. H. (2017). Evaluation of Microbial Contamination of Mobile Phone among

Dentists in College of Dentistry in Baghdad University. *International Journal of Medical Research and Health Sciences*, 6(11), 98-101.

13. Alghuthaymi, M. A. (2016). Comparative phytochemical and microbiological studies for oil extracts of Australian and Chinese garlic. *African Journal of Microbiology Research*, 10(5), 121-126.

14. Al-Haroni, M., Skaug, N. (2007). Incidence of antibiotic prescribing in dental practice in Norway and its contribution to national consumption. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(6), 1161-1166.

15. Alsuraim, B. S., Han, D. H. (2020). Effect of globalization on global dental caries trend. *Medicine*, 99(35).

16. Altuntas, S., Korukluoglu, M. (2019). Growth and effect of garlic (*Allium sativum*) on selected beneficial bacteria. *Food Science and Technology*, 39, 897-904.

17. Ambareen, Z., Chinappa, A. (2014). Go green-keep the root canal clean. *Int J Dent Sci Res*, 2(6B), 21-25.

18. Amorati, R., Foti, M. C., Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835–10847.

19. Amorati, R.; Pedulli, G. F. Do garlic-derived allyl sulfides scavenge peroxy radicals? *Org. Biomol. Chem.* 2008, 6, 1103–1107.

20. Amruthesh, S. (2011). Dentistry and Ayurveda V-An evidence based approach. *International Journal of Clinical Dental Science*, 2(1).

21. Ansary, J., Forbes-Hernández, T. Y., Gil, E., Cianciosi, D., Zhang, J., Elexpuru-Zabaleta, M., Simal-Gandara, J., Giampieri, F., Battino, M. (2020). Potential health benefit of garlic based on human intervention studies: A brief overview. *Antioxidants*, 9(7), 619.

22. Anusavice, K. J. (2002). “Dental Caries: Risk Assessment and Treatment Solutions for an Elderly Population. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*. 23 (10): 12-20.

23. Arasu, M. V., Viayaraghavan, P., Ilavenil, S., Al-Dhabi, N. A., Choi, K. C. (2019). Essential oil of four medicinal plants and protective properties in plum fruits against the spoilage bacteria and fungi. *Industrial Crops and Products*, 133, 54-62.

24. Årdal, C., Outterson, K., Hoffman, S. J., Ghafur, A., Sharland, M., Ranganathan, N., Smith, R., Zorzet, A., Cohn, J., Pittet, D., Daulaire, N., Morel, C., Rizvi, Z., Balasegaram, M., Dar, O. A., Heymann, D.L., Holmes, A.H., Moore, L.S.P., Laxminarayan, R., Mendelson, M. Røttingen, J. A. (2016). International cooperation to improve access to and sustain effectiveness of antimicrobials. *The Lancet*, 387(10015), 296-307.

25. Armstrong, J. S. (2006). Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *Bioessays*, 28(3), 253-260.

26. Asdaq, S. M. B., Yasmin, F., Alsalman, A. J., Kamal, M., Al Hawaj, M. A., Alsalman, K. J., Imran, M., Sreeharsha, N. (2022). Obviation of dyslipidemia by garlic oil and its organosulfur compound, diallyl disulphide, in experimental animals. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2520-2525.
27. Ashfaq, F., Ali, Q., Haider, M. A., Hafeez, M. M., Malik, A. (2021). Therapeutic activities of garlic constituent phytochemicals. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2021(1).
28. Ashley, N. T., Weil, Z. M., Nelson, R. J. (2012). Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 385-406.
29. Ashraf, S. A., Khan, M. A., Awadelkareem, A. M., Tajuddin, S., Ahmad, M. F., and Hussain, T. (2019). GC-MS analysis of commercially available *Allium sativum* and *trigonella foenum-graecum* essential oils and their antimicrobial activities. *J. Pure Appl. Microbiol*, 13, 2545-2552.
30. Atanasova, K. R., Yilmaz, Ö. (2015). Prelude to oral microbes and chronic diseases: past, present and future. *Microbes and Infection*, 17(7), 473-483.
31. Avila, M., Ojcius, D. M., Yilmaz, Ö. (2009). The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA and cell biology*, 28(8), 405-411.

B

32. Bachrach, G., Leizerovici-Zigmond, M., Zlotkin, A., Naor, R., Steinberg, D. (2003). Bacteriophage isolation from human saliva. *Letters in applied microbiology*, 36(1), 50-53.
33. Badet, C., Richard, B. (2004). Étude clinique de la carie. *EMC-dentisterie*, 1(1), 40-48.
34. Baehni, P. C., Takeuchi, Y. (2003). Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral diseases*, 9, 23-29.
35. Bagg, J., Macfarlane, T. W., Poxton, I. R., Smith, A. J. (2006). *Essentials of microbiology for dental students* (No. Ed. 2). Oxford university press.
36. Bajpai V K, Kang S C. (2010). Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87: 327-336.
37. Bajpai, V. K., Baek, K.-H., Kang, S. C. (2012). Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722–734.
38. Bajpai, V. K., Sharma, A., Baek, K. H. (2013). Antibacterial mode of action of *Cudrania tricuspidata* fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food-borne pathogens. *Food control*, 32(2), 582-590.

39. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
40. Bakri, I. M., Douglas, C. W. I. (2005). Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of oral biology*, 50(7), 645-651.
41. Baliga, S., Muglikar, S., Kale, R. (2013). Salivary pH: A diagnostic biomarker. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(4), 461.
42. Balouiri, M., Sadiki, M., Ibensouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
43. Bartlett, J. G., Gilbert, D. N., Spellberg, B. (2013). Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clinical infectious diseases*, 56(10), 1445-1450.
44. Bedini, S., Guarino, S., Echeverria, M. C., Flamini, G., Ascriczzi, R., Loni, A., Conti, B. (2020). *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis*, and *Salvia officinalis* essential oils: A spiced shield against blowflies. *Insects*, 11(3), 143.
45. Bedoya-Serna, C. M., Dacanal, G. C., Fernandes, A. M., Pinho, S. C. (2018). Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: *in vitro* study and application in Minas Padrão cheese. *Brazilian journal of microbiology*, 49, 929-935.
46. Belda-Ferre, P., Alcaraz, L. D., Cabrera-Rubio, R., Romero, H., Simon-Soro, A., Pignatelli, M., Mira, A. (2012). The oral metagenome in health and disease. *The ISME journal*, 6(1), 46-56.
47. Belibasakis, G. N. (2018). Microbiological changes of the ageing oral cavity. *Archives of oral biology*, 96, 230-232.
48. Belmabrouk, F. C., Griche, G., Mameri, Y., Kihal, M., Serradj, S. A. (2021). Caractérisation phénotypique des espèces de *Streptococcus* impliquées dans les caries dentaires et évaluation de l'activité antimicrobienne de deux ciments verres ionomères à Oran. *Journal de la faculté de médecine d'Oran*, 5(1).
49. Benjelali, B., Tantaoui-Elaraki, A., Ismaili-Alaoui, M., Ayadi, A. (1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant. med. phytother*, 20, 155-167.
50. Benkeblia, N. (2004). Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT-food science and technology*, 37(2), 263-268.
51. Benmeziane, F., Djermoune-Arkoub, L., Hassan, A. K., Zeghad, H. (2018). Evaluation of antibacterial activity of aqueous extract and essential oil from garlic against some pathogenic bacteria. *International Food Research Journal*, 25(2), 561-565.

52. Bennett, A. M., Fulford, M. R., Walker, J. T., Bradshaw, D. J., Martin, M. V., Marsh, P. D. (2000). Microbial aerosols in general dental practice. *British dental journal*, 189(12), 664-667.
53. Berezovsky, B., Bencko, V. (2021). Oral health in a context of public health: Prevention-related issue. *Central European Journal of Public Health*, 29(4), 317-321.
54. Bessah, R., Benyoussef, E. H. (2015). La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Journal of Renewable Energies*, 18(3), 513-528.
55. Bhatwalkar, S. B., Mondal, R., Krishna, S. B. N., Adam, J. K., Govender, P., Anupam, R. (2021). Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Frontiers in Microbiology*, 12, 1869.
56. Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain and oil science and technology*, 2(2), 49-55.
57. Bicchi, C., Liberto, E., Matteodo, M., Sgorbini, B., Mondello, L., Zellner, B. D. A., Costa, R., Rubiolo, P. (2008). Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(6), 382-391.
58. Bin, C., Al-Dhabi, N. A., Esmail, G. A., Arokiyaraj, S., Arasu, M. V. (2020). Potential effect of *Allium sativum* bulb for the treatment of biofilm forming clinical pathogens recovered from periodontal and dental caries. *Saudi journal of biological sciences*, 27(6), 1428-1434.
59. Bio-Rad. 2007. Géluse / milieu d'isolement sélectif et de différenciation des levures du genre *Candida* Sabouraud chloramphenicol gentamicin tetrazolium agar 54754 et 63734.
60. Blaser, M. J. (2016). Antibiotic use and its consequences for the normal microbiome. *Science*, 352(6285), 544-545.
61. Block, E. (2010). *Allium* botany and cultivation, ancient and modern. *Garlic and other alliums : the lore and the science*, 1-32.
62. Boehm, K., Büssing, A., Ostermann, T. (2012). Aromatherapy as an adjuvant treatment in cancer care—a descriptive systematic review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(4), 503-518.
63. Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., Carvalho, J. C. T. (2018). *Rosmarinus officinalis* Essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*. 229, 29-45.
64. Bouchara J P, Pihet M, Gentile L, Cimon B et Chabasse D. (2010). Les levures et les levures, Cahiers de formation Biologie médicale, imprimerie vert, Paris France, N° 44, 200p.

65. Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., Abrini, J. (2006). *Thymus* essential oils: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. *Congrès international de biochimie*, 324, 327.
66. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.
67. Bowden, G. H. W. (2000). The microbial ecology of dental caries. *Microbial ecology in health and disease*, 12(3), 138-148.
68. Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., Koo, H. (2018). Oral biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in microbiology*, 26(3), 229-242.
69. Buchbauer, G., 2010. Biological activities of essential oils. In: Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (Eds.), *Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Applications*. CRC Press, Boca Raton, pp. 235–280.
70. Bunetel, L., Tricot-Doleux, S., Agnani, G., Bonnaure-Mallet, M. (2000). *In vitro* evaluation of the retention of three species of pathogenic microorganisms by three different types of tooth brush. *Oral microbiology and immunology*, 15(5), 313-316.
71. Buonavoglia, A., Latronico, F., Greco, M. F., D'Abramo, M., Marinaro, M., Mangini, F., Corrente, M. (2010). Methicillin-resistant staphylococci carriage in the oral cavity: a study conducted in Bari (Italy). *Oral Diseases*, 16(5), 465-468.
72. Buonavoglia, A., Leone, P., Solimando, A. G., Fasano, R., Malerba, E., Prete, M., Corrente, M., Prati, C., Vacca, A., Racanelli, V. (2021). Antibiotics or no antibiotics, that is the question: an update on efficient and effective use of antibiotics in dental practice. *Antibiotics*, 10(5), 550.

6

73. Calderone, R., Clancy, C. (2012). *Candida* and Candidiasis, 2nd edn Washington. DC: *American Society for Microbiology*.
74. Çalık, A. N., Velibey, Y., Çağdaş, M., Nurkalem, Z. (2011). An unusual microorganism, *Aerococcus viridans*, causing endocarditis and aortic valvular obstruction due to a huge vegetation. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 39(4), 317-9.
75. Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. *Food control*, 54, 111-119.
76. Cantón, R., Morosini, M. I. (2011). Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS microbiology reviews*, 35(5), 977-991.

77. Carbonnelle, D. and Kouyoumdjian, S. (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. 251 p.
78. Carson, C. F., Hammer, K. A., Riley, T. V. (2006). Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical microbiology reviews*, 19(1), 50-62.
79. Casella, S., Leonardi, M., Melai, B., Fratini, F., Pistelli, L. (2013). The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L. *Phytotherapy Research*, 27(3), 380-383.
80. Castro-Sánchez, E., Moore, L. S., Husson, F., Holmes, A. H. (2016). What are the factors driving antimicrobial resistance? Perspectives from a public event in London, England. *BMC infectious diseases*, 16, 1-5.
81. Chabasse D, Guigen C I et Contet-Audonneau N. 1999. Mycologie médicale. Masson, Paris.
82. Chang, H. C., Huang, G. J., Agrawal, D. C., Kuo, C. L., Wu, C. R., and Tsay, H. S. (2007). Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu”. *Botanical studies*, 48(4), 397-406.
83. Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M., Hanage, W. P. (2015). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evolutionary applications*, 8(3), 240-247.
84. Chao, L. K., Hua, K. F., Hsu, H. Y., Cheng, S. S., Liu, J. Y., Chang, S. T. (2005). Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(18), 7274-7278.
85. Chekki, R. Z., Snoussi, A., Hamrouni, I., Bouzouita, N. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(4), 947-956.
86. Chekroud, Z., Silini, H., Khalfi, S., Redjem, Y. (2019). Contribution to the evaluation of antibacterial activity of *Allium sativum* L. (Garlic) Essential oil and fresh juice. *Garlic) Essential Oil and Fresh Juice*, 42-50.
87. Chen, L., Qin, B., Du, M., Zhong, H., Xu, Q., Li, Y., Zhang, P., Fan, M. (2015). Extensive description and comparison of human supra-gingival microbiome in root caries and health. *PLoS One*, 10(2), e0117064.
88. Chen, X., Daliri, E. B. M., Chelliah, R., Oh, D. H. (2020). Isolation and identification of potentially pathogenic microorganisms associated with dental caries in human teeth biofilms. *Microorganisms*, 8(10), 1596.

89. Chen, X., Daliri, E. B. M., Kim, N., Kim, J. R., Yoo, D., Oh, D. H. (2020). Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. *Pathogens*, 9(7), 569.
90. Chhour, K. L., Nadkarni, M. A., Byun, R., Martin, F. E., Jacques, N. A., Hunter, N. (2005). Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *Journal of clinical microbiology*, 43(2), 843-849.
91. Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
92. CLSI. 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, 7th Ed.
93. Colombo, A. P. V., do Souto, R. M., Araújo, L. L., Espíndola, L. C. P., Hartenbach, F. A. R., Magalhães, C. B., da Silva Oliveira Alves, G., Lourenço, T.G.B., da Silva-Boghossian, C. M. (2023). Antimicrobial resistance and virulence of subgingival staphylococci isolated from periodontal health and diseases. *Scientific Reports*, 13(1), 11613.
94. Couic-Marinier, F., Lobstein, A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 18-21.
95. Cruz, A. S. D. C., Fidelis, Y. P., de Mendonça Guimarães, D., Muller, H. S., Martins, V. D. P., Lia, E. N. (2022). Oral health and the presence of infectious microorganisms in hospitalized patients: a preliminary observational study. *Annals of Medicine*, 54(1), 1908-1917.
96. Cuesta, A. I., Jewtuchowicz, V., Brusca, M. I., Nastri, M. L., Rosa, A. C. (2010). Prevalence of *Staphylococcus* spp and *Candida* spp in the oral cavity and periodontal pockets of periodontal disease patients. *Acta Odontológica Latinoamericana*, 23(1), 20-26.
97. Curtis, M. A., Zenobia, C., Darveau, R. P. (2011). The relationship of the oral microbiota to periodontal health and disease. *Cell host and microbe*, 10(4), 302-306.

D

98. Da Porto, C., Decorti, D. (2009). Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of flavour compounds from spearmint (carvone-rich) plants: comparison with conventional hydrodistillation. *Ultrasonics sonochemistry*, 16(6), 795-799.
99. Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and drug resistance*, 3903-3910.
100. Dahlén, G., Linde, A., Möller, Å. J., Öhman, A. (1982). A retrospective study of microbiologic samples from oral mucosal lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 53(3), 250-255.

101. Dar, O. A., Hasan, R., Schlundt, J., Harbarth, S., Caleo, G., Dar, F. K., Littmann, J., Rweyemamu M., Buckley, E.J., Shahid, M., Kock, R., Li, H. L., Giha, H., Khan, M., So, A. D., Bindayna, K., Kessel, A., Pedersen, H. B., Permanand, G., Zumla, A., Røttingen J. A., Heymann, D. L. (2016). Exploring the evidence base for national and regional policy interventions to combat resistance. *The Lancet*, 387(10015), 285-295.
102. Darout, I. A. (2014). Oral bacterial interactions in periodontal health and disease. *J Dent Oral Hyg*, 6(5), 51-57.
103. De Groot, A. C., Schmidt, E. (2016). Essential oils, part III : chemical composition. *Dermatitis*, 27(4), 161-169.
104. De Kraker, M. E., Stewardson, A. J., Harbarth, S. (2016). Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? *PLoS medicine*, 13(11), e1002184.
105. De Lavor, É. M., Fernandes, A. W. C., de Andrade Teles, R. B., Leal, A. E. B. P., de Oliveira Júnior, R. G., Gama e Silva, M., de Oliveira, A.P., Silva, J.C., de Moura Fonte Araújo, M.T., Melo Coutinho, H.D., de Menezes, I. R. A., Picot, L., da Silva Almeida, J. R. G. (2018). Essential oils and their major compounds in the treatment of chronic inflammation: A review of antioxidant potential in preclinical studies and molecular mechanisms. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
106. De Marchi, R. J., Hugo, F. N., Padilha, D. M. P., Hilgert, J. B., Machado, D. B., Durgante, P. C., Antunes, M. T. (2011). Edentulism, use of dentures and consumption of fruit and vegetables in south Brazilian community-dwelling elderly. *Journal of Oral Rehabilitation*, 38(7), 533-540.
107. De Medeiros, F. C., Gouveia, F. N., Bizzo, H. R., Vieira, R. F., Del Menezzi, C. H. (2016). Fungicidal activity of essential oils from Brazilian Cerrado species against wood decay fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 114, 87-93.
108. de Repentigny, L. (2004). Animal models in the analysis of Candida host-pathogen interactions. *Current opinion in microbiology*, 7(4), 324-329.
109. Decraene, V., Ready, D., Pratten, J., Wilson, M. (2008). Air-borne microbial contamination of surfaces in a UK dental clinic. *The Journal of general and applied microbiology*, 54(4), 195-203.
110. Dehariya, N., Guha, P., Gupta, R. K. (2021). Extraction and characterization of essential oil of garlic (*Allium sativa* L.). *Int. J. Chem. Stud*, 9, 1455-1459.
111. Delarras C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.

112. Deo, P. N., Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 23(1), 122.
113. DePaola, L. G., Grant, L. E. (Eds.). (2020). Infection Control in the Dental Office. *A Global Perspective*.
114. Derwich E, Benziane Z, Boukir A. 2010. GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res J Agric Biol Sci*. 6 (3): 191-198.
115. Devi, K. P., Nisha, S. A., Sakthivel, R., Pandian, S. K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of ethnopharmacology*, 130(1), 107-115.
116. Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C., Yu, W. H., Lakshmanan, A., Wade, W. G. (2010). The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*, 192(19), 5002-5017.
117. Dewi, A. D. R., Kusnadi, J., and Shih, W.-L. (2017). Comparison of the Main Bioactive Compounds and Antioxidant Activity from Garlic Water-soluble and Garlic Oil. *KnE Life Sciences*, 3(5), 20-34. <https://doi.org/10.18502/kl.v3i5.975>
118. Dickinson, B. C., Moffatt, C. E., Hagerty, D., Whitmore, S. E., Brown, T. A., Graves, D. T., Lamont, R. J. (2011). Interaction of oral bacteria with gingival epithelial cell multilayers. *Molecular oral microbiology*, 26(3), 210-220.
119. Didilescu, A. C., Skaug, N., Marica, C., Didilescu, C. (2005). Respiratory pathogens in dental plaque of hospitalized patients with chronic lung diseases. *Clinical oral investigations*, 9, 141-147.
120. Dimas A. Pratama, D. A., Perangin-angin, S. (2022). Isolation and Analysis of Chemical Components of Garlic (*Allium sativum* L.) Tuber Essential Oil As Well As Antibacterial and Antioxidant Activity Tests. *Journal of Chemical Natural Resources*, 4 (1) :18 – 27
121. Djouahri, A., Boudarene, L., Meklati, B. Y. (2013). Effect of extraction method on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oil from the leaves of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*, 44, 32-36.
122. Donkor, E. S., Kotey, F. C. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: implications for antibiotic prophylaxis and surveillance. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 13, 1178633720976581.
123. Douiri, L.F., Boughdad, A., Assobhei, O., and Moumni, M. (2013). Chemical composition and biological activity of *Allium sativum* essential oils against *Callosobruchus maculatus*. *Toxicol Food Technol*, 3(1), 30-36.

124. Dramane, S., Witabouna, K. M., Kagoyire, K. (2010). Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire. *Eur J Sci Res*, 40(2), 307-317.
125. Du, Q., Ren, B., He, J., Peng, X., Guo, Q., Zheng, L., Li, J., Dai, H., Chen, V., Zhang, L., Zhou, X., Xu, X. (2021). *Candida albicans* promotes tooth decay by inducing oral microbial dysbiosis. *The ISME journal*, 15(3), 894-908.
126. Džamić A, Soković M, Ristić M, Novaković M, Grujić S, Tešević V et Marin P D. 2010. Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* (L.) Hudson (Lamiaceae) essential oil. *Botanica serbica*. 34 (1): 57-61.
127. Dziri, S., Casabianca, H., Hanchi, B., Hosni, K. (2014). Composition of garlic essential oil (*Allium sativum* L.) as influenced by drying method. *Journal of Essential Oil Research*, 26(2), 91-96.



128. Edlund, A., Santiago-Rodriguez, T. M., Boehm, T. K., Pride, D. T. (2015). Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *Journal of oral microbiology*, 7(1), 27423.
129. El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Ait Addi, E.H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F.N.R., Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceuticals*, 483(1-2), 220-243.
130. El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G. Wasef, L., Elewa, Y. H., A. Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., Abd-Elhakim, Y. M., Prasad Devkota, H. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients*, 12(3), 872.
131. Epstein, J. B., Chong, S., Le, N. D. (2000). A survey of antibiotic use in dentistry. *The Journal of the American Dental Association*, 131(11), 1600-1609.
132. Ergöz, N., Seymen, F., Gencay, K., Tamay, Z., Deeley, K., Vinski, S., Vieira, A. R. (2014). Genetic variation in Ameloblastin is associated with caries in asthmatic children. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 15, 211-216.
133. Eyob S, Martinsen B K, Tsegaye A, Appलगren M et Skrede G. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima* ((Braun) P.C.M. Jansen). *African Journal of Biotechnology*. 7: 2585–2592.
134. Ezeorba, T. P. C., Chukwudozie, K. I., Ezema, C. A., Anaduaka, E. G., Nweze, E. J., Okeke, E. S. (2022). Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent

findings and future prospects. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 3, 100075.

F

135. Fakhruddin, K. S., Ngo, H. C., Samaranayake, L. P. (2019). Cariogenic microbiome and microbiota of the early primary dentition: A contemporary overview. *Oral diseases*, 25(4), 982-995.

136. Ferreira, E. D. S., Rosalen, P. L., Benso, B., de Cassia Orlandi Sardi, J., Denny, C., Alves de Sousa, S., ... and Dias de Castro, R. (2021). The use of essential oils and their isolated compounds for the treatment of oral candidiasis: a literature review. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2021.

137. Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., and Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food chemistry*, 100(4), 1511-1516.

138. Figueira, L. W., de Oliveira, M. A. C., Brighenti, F. L., Koga-Ito, C. Y. (2023). Thymus vulgaris and *Allium sativum* essential oils showed inhibitory effects on *Candida albicans* biofilms.

139. Fokou, J. B. H., Dongmo, P. M. J., Boyom, F. F. (2020). Essential oil's chemical composition and pharmacological properties. In *Essential oils-oils of nature*. IntechOpen.

140. Founou, R. C., Founou, L. L., Essack, S. Y. (2017). Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 12(12), e0189621.

141. Fritschi, B. Z., Albert-Kiszely, A., Persson, G. R. (2008). *Staphylococcus aureus* and other bacteria in untreated periodontitis. *Journal of dental research*, 87(6), 589-593.

142. Frost, I., Van Boeckel, T. P., Pires, J., Craig, J., Laxminarayan, R. (2019). Global geographic trends in antimicrobial resistance: the role of international travel. *Journal of travel medicine*, 26(8), taz036.

G

143. Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., Chen, F. (2018). Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein and cell*, 9(5), 488-500.

144. Garus-Pakowska, A., Górajski, M., Szatko, F. (2017). Knowledge and attitudes of dentists with respect to the risks of blood-borne pathogens—A cross-sectional study in Poland. *International journal of environmental research and public health*, 14(1), 69.
145. Ghannoum, M. A., Jurevic, R. J., Mukherjee, P. K., Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., Gillevet, P. M. (2010). Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS pathogens*, 6(1), e1000713.
146. Goetz, P., Ghedira, K. (2012). *Allium sativum* L.(Alliaceae): ail. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 211-220). Springer, Paris.
147. Gómez, L. A., De Avila, J., Castillo, D. M., Montenegro, D. A., Trujillo, T. G., Suárez, L. J., Lafaurie, G. I. (2020). *Porphyromonas gingivalis* placental atopobiosis and inflammatory responses in women with adverse pregnancy outcomes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 591626.
148. Gonçalves, M. O., Coutinho-Filho, W. P., Pimenta, F. P., Pereira, G. A., Pereira, J. A. A., Mattos-Guaraldi, A. L., Hirata Jr, R. (2007). Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. *Letters in applied microbiology*, 44(5), 488-494.
149. Gong, J., Park, H., Lee, J., Seo, H., Lee, S. (2019). Effect of photodynamic therapy on multispecies biofilms, including *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, and *Candida albicans*. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery*, 37(5), 282-287.
150. Gong, X., Su, X., Liu, H. (2021). Diallyl trisulfide, the antifungal component of garlic essential oil and the bioactivity of its nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Molecules*, 26(23), 7186.
151. Gounaris, Y. (2010). Biotechnology for the production of essential oils, flavours and volatile isolates. A review. *Flavour and fragrance journal*, 25(5), 367-386.
152. Guardabassi, L., Courvalin, P. (2005). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*, 1-18.
153. Guillaume, P.Y ; (2004). Les milieux de cultures.
154. Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action (Doctoral dissertation, Université de Corse).
155. Guinoiseau, E., Luciani, A., Rossi, P. G., Quilichini, Y., Ternengo, S., Bradesi, P., Berti, L. (2010). Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus*. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases*, 29, 873-879.
156. Gund, M., Isack, J., Hannig, M., Thieme-Ruffing, S., Gärtner, B., Boros, G., Rupf, S. (2021). Contamination of surgical mask during aerosol-producing dental treatments. *Clinical oral investigations*, 25, 3173-3180.

157. Guo, Y. (2014). Experimental study on the optimization of extraction process of garlic oil and its antibacterial effects. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(2), 411-414.



158. Haas, B., Bonifait, L., Vaillancourt, K., Charette, S. J., Gottschalk, M., Grenier, D. (2014). Characterization of DNase activity and gene in *Streptococcus suis* and evidence for a role as virulence factor. *BMC research notes*, 7(1), 1-8.

159. Habtemariam, S. (2019). The chemical and pharmacological basis of garlic (*Allium sativum* L.) as potential therapy for type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*, Academic Press, United Kingdom, 689-749.

160. Haciseferoğulları, H., Özcan, M., Demir, F., and Çalışır, S. (2005). Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of food engineering*, 68(4), 463-469.

161. Haddouchi, F., Benmansour, A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8).

162. Hajishengallis, G., Lamont, R. J. (2021). Polymicrobial communities in periodontal disease: Their quasi-organismal nature and dialogue with the host. *Periodontology 2000*, 86(1), 210-230.

163. Hanif, M. A., Nisar, S., Khan, G. S., Mushtaq, Z., Zubair, M. (2019). Essential oils. *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production*, 3-17.

164. Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H. I., Huang, L., Dai, M., Wang, Y., Liu, Z., Yuan, Z. (2014). Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Frontiers in microbiology*, 5, 288.

165. Hardie, J. M., Whiley, R. A. (1995). The genus *Streptococcus*. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 55-124). Springer, Boston, MA.

166. Harrel, S. K., Molinari, J. (2004). Aerosols and splatter in dentistry: a brief review of the literature and infection control implications. *The Journal of the American Dental Association*, 135(4), 429-437.

167. Harris, B. (2010). 11 Phytotherapeutic Uses of Essential Oils. *ESSENTIAL*, 315.

168. Hassan, K. A., Mujtaba, M. A. (2019). Antibacterial efficacy of garlic oil nano-emulsion. *AIMS Agriculture and Food*, 4(1), 194-205.
169. Hassan-Olajokun, R. E., Folarin, A. A., Olaniran, O., Umo, A. N. (2008). The prevalent bacterial isolates of dental caries in school age children attending the dental clinic of oauthc, ile-ife. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 9(2), 103-108.
170. Hazrati, S., Lotfi, K., Govahi, M., Ebadi, M. T. (2021). A comparative study: Influence of various drying methods on essential oil components and biological properties of *Stachys lavandulifolia*. *Food Science and Nutrition*, 9(5), 2612-2619.
171. Herrera-Calderon, O., Chacaltana-Ramos, L. J., Huayanca-Gutiérrez, I. C., Algarni, M. A., Alqarni, M., Batiha, G. E. S. (2021). Chemical constituents, *in vitro* antioxidant activity and *in silico* study on NADPH oxidase of *Allium sativum* L.(garlic) essential oil. *Antioxidants*, 10(11), 1844.
172. Hoceini, A., Khelil, N. K., Ben-Yelles, I., Mesli, A., Ziouani, S., Ghellai, L., Aissaoui, N., Nas, F., et Arab, M. (2016). Caries-related factors and bacterial composition of supragingival plaques in caries free and caries active Algerian adults. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 6(8), 720-726.
173. Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin, P. J., Piddock, L. J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387(10014), 176-187.
174. Hong, K., Park, S. (1999). Melamine resin microcapsules containing fragrant oil: synthesis and characterization. *Materials Chemistry and Physics*, 58(2), 128-131.
175. Hu, F., Tu, X.-F., Thakur, K., Hu, F., Li, X.-L., Zhang, Y.-S., Zhang, J.-G., Wei, Z.-J. (2019). Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 134, 110821.
176. Hu, G., Cai, K., Li, Y., Hui, T., Wang, Z., Chen, C., Xu, B., Zhang, D. (2021). Significant inhibition of garlic essential oil on benzo [a] pyrene formation in charcoal-grilled pork sausages relates to sulfide compounds. *Food Research International*, 141, 110127.
177. Hu, K. F., Chou, Y. H., Wen, Y. H., Hsieh, K. P., Tsai, J. H., Yang, P., Yang Y. H., Lin, C. H. R. (2016). Antipsychotic medications and dental caries in newly diagnosed schizophrenia: A nationwide cohort study. *Psychiatry research*, 245, 45-50.
178. Huang, Z., Chen, J., Li, B., Zeng, B., Chou, C. H., Zheng, X., Xie J., Li, H., Hao, Y., Chen, G., Pei, F., Shen, B., Kraus, V. B., Wei, H., Zhou, X., Cheng, L. (2020). Faecal microbiota transplantation from metabolically compromised human donors accelerates osteoarthritis in mice. *Annals of the rheumatic diseases*, 79(5), 646-656.

179. Hussein, M. M. A. H., Hassan, W. H., and Moussa, I. M. I. (2013). Potential use of allicin (garlic, *Allium sativum* Linn, essential oil) against fish pathogenic bacteria and its safety for monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Food Agriculture and Environment*, 11(1), 696-699.
180. Hyldgaard, M., Mygind, T. Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1–24.

J

181. Ibrahim, E. A. (2017). *In vitro* Antimicrobial activity of *Allium sativum* (Garlic) against wound infection pathogens. *Afr. J. Med. Sci*, 2(8), 666-669.
182. Iskandar, K., Molinier, L., Hallit, S., Sartelli, M., Catena, F., Coccolini, F., Hardcastle T.C., Roques, C., Salameh, P. (2020). Drivers of antibiotic resistance transmission in low-and middle-income countries from a “one health” perspective—a review. *Antibiotics*, 9(7), 372.
183. Islam, B., Khan, S. N., Khan, A. U. (2007). Dental caries: from infection to prevention. *Medical Science Monitor*, 13(11), RA196.
184. ISO. 1997. Norme ISO 9235 : Matières premières d'origine naturelle - Vocabulaire, 2p.

L

185. Jakubovics, N. S., Goodman, S. D., Mashburn-Warren, L., Stafford, G. P., Cieplik, F. (2021). The dental plaque biofilm matrix. *Periodontology 2000*, 86(1), 32-56.
186. Jiang, W., Ling, Z., Lin, X., Chen, Y., Zhang, J., Yu, J., Xiang, C., Chen, H. (2014). Pyrosequencing analysis of oral microbiota shifting in various caries states in childhood. *Microbial ecology*, 67, 962-969.
187. Jiang, W., Zhang, J., Chen, H. (2013). Pyrosequencing analysis of oral microbiota in children with severe early childhood dental caries. *Current microbiology*, 67, 537-542.
188. Jiang, X., Yang, S., Sun, G. (2013). Odontogenic infection due to *Aerococcus viridans*: a case report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 71(9), 1552-1554.
189. Joffin, J. N., Leyral, G. (2006). Microbiologie technique, TI-Dictionnaire des techniques. *Bordeaux: CRDP d'aquitaine*.
190. Johnson, O. O., Ayoola, G. A., and Adenipekun, T. (2013). Antimicrobial activity and the chemical composition of the volatile oil blend from *Allium sativum* (Garlic Clove) and

Citrus reticulata (Tangerine Fruit). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 5(4), 187-193.

K

191. Kaboré WAD, Konaté A, Dembélé R, Konaté K, Faye B, et al. (2016) Occurrence and Antibiotic Susceptibility of *Aerococcus* and *Enterococcus* Strains Isolated from Acute and Chronic Cellulites of Dental Origin in Ouagadougou, Burkina Faso. *J Den Oral Care Med* 2(1): 104.
192. Kaboré, W. A. D., Dembélé, R., Konaté, A., Leye Benoist, F., Seck, A., Touré, B. (2016). Characterization and antimicrobial susceptibility of *Aerococcus* and *Enterococcus* strains isolated from apical periodontitis in Ouagadougou, Burkina Faso. *J Dent Oral Care Med*, 2(3), 323-8.
193. Kahn, R. C., Lancaster, M. V., Kate Jr, W. (1982). The microbiologic cross-contamination of dental prostheses. *The Journal of prosthetic dentistry*, 47(5), 556-559.
194. Kahvand, M., Mehran, M., Haghgoo, R., Faghihi, T. (2019). Clinical and radiographic evaluation of *Allium sativum* oil (garlic oil) in comparison with formocresol in primary molar pulpotomy. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 9(4), 390.
195. Kajaba, I., Kajabová, A., Genčíková, M., Genčík, B., Lovászová, N., Bencko, V. (2020). Development of intestinal microbiome-importance for prevention and therapy. *Hygiena*, 65(1), 22-6.
196. Kalesinskas, P., Kačergius, T., Ambrozaitis, A., Pečiulienė, V., Ericson, D. (2014). Reducing dental plaque formation and caries development. A review of current methods and implications for novel pharmaceuticals. *Stomatologija*, 16(2), 44-52.
197. Kamer, A. R., Pushalkar, S., Gulivindala, D., Butler, T., Li, Y., Annam, K. R. C., Glodzik, L., Ballman, K.V., Corby, P.M., Blennow, K., Zetterberg, H., Saxena, D., de Leon, M. J. (2021). Periodontal dysbiosis associates with reduced CSF A β 42 in cognitively normal elderly. *Alzheimer's and Dementia: Diagnosis, Assessment and Disease Monitoring*, 13(1), e12172.
198. Karic, V., Jaiswal, A., Abrahamse, H., Thakur, A., Ganeshpurkar, A. (2020). Effectiveness of *Allium sativum* on bacterial oral infection. *Natural Oral Care in Dental Therapy*, 345-369.
199. Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., Joloba, M. L., Najjuka, F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and

- Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 9(1), 1-7.
200. Kedjarune, U., Kukiattrakoon, B., Yaping, B., Chowanadisai, S., Leggat, P. A. (2000). Bacterial aerosols in the dental clinic: effect of time, position and type of treatment. *International dental journal*, 50(2), 103-107.
201. Khadri, S., Boutefnouchet, N., Dekhil, M. (2010). Antibacterial activity evaluation of *Allium sativum* essential oil compared to different *Pseudomonas aeruginosa* strains in eastern algeria. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 11(4), 421-428.
202. Khan, S., Das, S., Malik, N., and Bhat, S. A. (2017). Antioxidant properties of garlic essential oil and its use as a natural preservative in processed food. *International Journal of Chemical Studies*, 5, 813-821.
203. Khorshidian, N., Yousefi, M., Khanniri, E., Mortazavian, A. M. (2018). Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 62-72.
204. Kianoush, N., Adler, C. J., Nguyen, K. A. T., Browne, G. V., Simonian, M., Hunter, N. (2014). Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity. *PloS one*, 9(3), e92940.
205. Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., M. S. Tonetti, M.S., Wade, W.G., Zaura, E. (2016). The oral microbiome—an update for oral healthcare professionals. *British dental journal*, 221(10), 657-666.
206. Kimmerle, H., Wiedmann-Al-Ahmad, M., Pelz, K., Wittmer, A., Hellwig, E., Al-Ahmad, A. (2012). Airborne microbes in different dental environments in comparison to a public area. *Archives of oral biology*, 57(6), 689-696.
207. Kiralan, M., Bayrak, A., Abdulaziz, O. F., Özbucak, T. (2012). Essential oil composition and antiradical activity of the oil of Iraq plants. *Natural product research*, 26(2), 132-139.
208. Kırmusaoğlu, S., Gareayaghi, N., Kocazeybek, B. S. (2019). Introductory chapter: the action mechanisms of antibiotics and antibiotic resistance. In *Antimicrobials, antibiotic resistance, antibiofilm strategies and activity methods*. IntechOpen.
209. Klinke, T., Guggenheim, B., Klimm, W., Thurnheer, T. (2011). Dental Caries in Rats Associated with *Candida albicans*. *Caries Research*, 45(2), 100–106.
210. Klinke, T., Kneist, S., de Soet, J. J., Kuhlisch, E., Mauersberger, S., Förster, A., Klimm, W. (2009). Acid production by oral strains of *Candida albicans* and *Lactobacilli*. *Caries research*, 43(2), 83-91.

211. Koliarakis, I., Messaritakis, I., Nikolouzakis, T. K., Hamilos, G., Souglakos, J., Tsiaoussis, J. (2019). Oral bacteria and intestinal dysbiosis in colorectal cancer. *International journal of molecular sciences*, 20(17), 4146.
212. Könönen, E., Gursoy, M., Gursoy, U. K. (2019). Periodontitis: a multifaceted disease of tooth-supporting tissues. *Journal of clinical medicine*, 8(8), 1135.
213. Kouidhi, B., Zmantar, T., Hentati, H., Bakhrouf, A. (2010). Cell surface hydrophobicity, biofilm formation, adhesives properties and molecular detection of adhesins genes in *Staphylococcus aureus* associated to dental caries. *Microbial Pathogenesis*, 49(1-2), 14–22.
214. Koukos, G., Sakellari, D., Arsenakis, M., Tsalikis, L., Slini, T., Konstantinidis, A. (2015). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity. *Archives of oral biology*, 60(9), 1410-1415.
215. Kramer, A., Schwebke, I., Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC infectious diseases*, 6(1), 1-8.
216. Kronström, M., Svenson, B., Hellman, M., et Persson, G. R. (2001). Early implant failures in patients treated with Brånemark System titanium dental implants: a retrospective study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 16(2).
217. Kshirsagar, M. M., Dodamani, A. S., Karibasappa, G. N., Vishwakarma, P. K., Vathar, J. B., Sonawane, K. R., ... and Khobragade, V. R. (2018). Antibacterial activity of garlic extract on cariogenic bacteria: An *in vitro* study. *Ayu*, 39(3), 165.
218. Kumar, P., Yadav, J., Jain, M., Yadav, P., Goel, A. K., Yadava, P. K. (2016). Bactericidal Efficacy of *Allium sativum* (garlic) Against Multidrug Resistant *Vibrio cholerae* O1 Epidemic Strains. *Defence Science Journal*, 66(5).
219. Kurita, H., Kurashina, K., Honda, T. (2006). Nosocomial transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via the surfaces of the dental operatory. *British dental journal*, 201(5), 297-300.
220. Kyung, K.K. (2012). Antimicrobial properties of *Allium* species. *Current Option in Biotechnology*, 23, 142–147.

I

221. Lamont, R. J., Koo, H., Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature reviews microbiology*, 16(12), 745-759.
222. Lasserre, J. F., Brex, M. C., Toma, S. (2018). Oral microbes, biofilms and their role in periodontal and peri-implant diseases. *Materials*, 11(10), 1802.

223. Lawrence, R., and Lawrence, K. (2011). Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 51-54.
224. Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N., Sumpradit, N., Vlieghe, E., Hara, G.L., Gould, I. M., Goossens, H., Greko, C., So, A. D., Bigdeli, M., Tomson, G., Woodhouse, W., Ombaka, E., Peralta, A. Q., Qamar, F. N., Mir, F., Kariuki, S., Bhutta, Z.A, Coates, A., Bergstrom, R., Wright, G.D, Brown, E.D, Cars, O. (2013). Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet infectious diseases*, 13(12), 1057-1098.
225. Lebres, E. (2004c). Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur d'Algerie.
226. Lee, Y. H., Chung, S. W., Auh, Q. S., Hong, S. J., Lee, Y. A., Jung, J., Lee, G. J., Park H. J., Shin S-I, Hong, J. Y. (2021). Progress in oral microbiome related to oral and systemic diseases: an update. *Diagnostics*, 11(7), 1283.
227. Lee, Y. H., Park, H. W., Lee, J. H., Seo, H. W., Lee, S. Y. (2012). The photodynamic therapy on *Streptococcus mutans* biofilms using erythrosine and dental halogen curing unit. *International journal of oral science*, 4(4), 196-201.
228. Lemma, E., Yusuf, Z., Desta, M., Seyida, S., Idris, M., Mengistu, S., Teneshu, J. (2022). Physicochemical Properties and Biological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.) Bulb and Leek (*Allium ampeloprasum* L. var. Porrum) Leaf Oil Extracts. *The Scientific World Journal*, 2022.
229. Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Abranches, J., Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology spectrum*, 7(1), 10-1128.
230. Leys, E. J., Griffen, A. L., Kumar, P. S., Maiden, M. F. (2006). Isolation, classification, and identification of oral microorganisms. *Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, Le-Blanc DJ. Oral Microbiology and Immunology. ASM Press Washington DC, USA*, 73-88.
231. Leyva, J. M., Ortega-Ramirez, L. A., Ayala-Zavala, J. F. (2016). Garlic (*Allium sativum* Linn.) oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 441-446.
232. Li, Q., Chang, W., Zhang, H., Hu, D., Wang, X. (2019). The role of plasmids in the multiple antibiotic resistance transfer in ESBLs-producing *Escherichia coli* isolated from wastewater treatment plants. *Frontiers in microbiology*, 10, 633.
233. Li, W. R., Shi, Q. S., Dai, H. Q., Liang, Q., Xie, X. B., Huang, X. M., ... Zhang, L. X. (2016). Antifungal activity, kinetics and molecular mechanism of action of garlic oil against *Candida albicans*. *Scientific reports*, 6(1), 22805.

234. Li, W. R., Shi, Q. S., Liang, Q., Huang, X. M., Chen, Y. B. (2014). Antifungal effect and mechanism of garlic oil on *Penicillium funiculosum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 8337-8346.
235. Li, Y. L., Yeung, C. M., Chiu, L. C., Cen, Y. Z., Ooi, V. E. (2009). Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Schefflera heptaphylla*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(1), 14
236. Li, Y., Cui, J., Liu, Y., Chen, K., Huang, L., Liu, Y. (2021). Oral, tongue-coating microbiota, and metabolic disorders: A novel area of interactive research. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8, 730203.
237. Lim, T. K., Lim, T. K. (2015). *Allium sativum*. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants: Volume 9, Modified Stems, Roots, Bulbs*, 210-360.
238. Lim, Y. Y., Lim, T. T., and Tee, J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food chemistry*, 103(3), 1003-1008.
239. Lim, Y., Totsika, M., Morrison, M., Punyadeera, C. (2017). Oral microbiome: a new biomarker reservoir for oral and oropharyngeal cancers. *Theranostics*, 7(17), 4313.
240. Lima, K. C., Coelho, L. T., Pinheiro, I. V. A., Rocas, I. N., Siqueira Jr, J. F. (2011). Microbiota of dentinal caries as assessed by reverse-capture checkerboard analysis. *Caries research*, 45(1), 21-30.
241. Limeback, H., Lai, J. Y., Bradley, G., Robinson, C. (2012). A brief introduction to oral diseases: caries, periodontal disease, and oral cancer. *Comprehensive preventive dentistry*, 1-24.
242. Ling, Z., Kong, J., Jia, P., Wei, C., Wang, Y., Pan, Z., Huang, W., Li, L., Chen, H., Xiang, C. (2010). Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. *Microbial ecology*, 60, 677-690.
243. Lis-Balchin, M., 2010. Aromatherapy with essential oils. In: Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (Eds.), *Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Applications*. CRC Press, Boca Raton, pp. 549–584.
244. Liu, J. F., Hsu, C. L., Chen, L. R. (2019). Correlation between salivary mutans streptococci, lactobacilli and the severity of early childhood caries. *Journal of dental sciences*, 14(4), 389-394.
245. Liu, J., Mahmood, M. S., Abbas, R. Z., Dillawar, A., Nawaz, Z., Luqman, M., ... and Rafique, A. (2021). Therapeutic appraisal of ethanolic and aqueous extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) as antimicrobial agent. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 58(1).

246. Loesche, W. J., Grossman, N. S. (2001). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 727-752.
247. Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. *Pharmacognosy*, 233–266.



248. Maestri, D. M., Nepote, V., Lamarque, A. L., Zygadlo, J. A. (2006). Natural products as antioxidants. *Phytochemistry: advances in research*, 37(661), 105-135.
249. Magiorakos, A-P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice L.B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J.T, Monnet D.L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 18: 268–281.
250. Mahmoud, N. M., Rahma, E. H., Osheba, A. S., El-Bedawey, A. A., and Saad, M. M. (2020). Chemical components, antioxidant and antimicrobial activities of garlic, cumin and parsley volatile oils. *Menoufia J Food Dairy Sci*, 5, 53-63.
251. Mainjot, A., D’Hoore, W., Vanheusden, A., Van Nieuwenhuysen, J. P. (2009). Antibiotic prescribing in dental practice in Belgium. *International endodontic journal*, 42(12), 1112-1117.
252. Majewski, M. (2014). *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 65(1).
253. Mallya, P. S., Mallya, S. (2020). Microbiology and clinical implications of dental caries- a review. *J Evol Med Dent Sci*, 9, 3670-3675.
254. Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur N A, Echard B W, Bagchi D et Preuss H G. 2001. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 228: 111–117.
255. Marchese, A., Barbieri, R., Sanches-Silva, A., Daglia, M., Nabavi, S. F., Jafari, N. J., . Izadi, M., Ajami, M., Nabavi, S. M. (2016). Antifungal and antibacterial activities of allicin: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 52, 49-56.
256. Mariam, B., Samira, R., Mohamed, D., Anass, E., Abdelaziz, E. A., Mounia, O., and El Mostafa, M. (2020). WITHDRAWN: Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Allium sativum* L. from Morocco.

257. Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes?. *Microbiology*, 149(2), 279-294.
258. Marsh, P. D. (2010). Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *Journal of dentistry*, 38, S11-S15.
259. Marsh, P. D., Head, D. A., Devine, D. A. (2015). Ecological approaches to oral biofilms: control without killing. *Caries research*, 49(Suppl. 1), 46-54.
260. Martin, F. E., Nadkarni, M. A., Jacques, N. A., Hunter, N. (2002). Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *Journal of clinical microbiology*, 40(5), 1698-1704.
261. Martin, M. V., Hardy, P. (1991). Two cases of oral infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *British dental journal*, 170(2), 63-64.
262. Martinon, P., Fraticelli, L., Giboreau, A., Dussart, C., Bourgeois, D., Carrouel, F. (2021). Nutrition as a key modifiable factor for periodontitis and main chronic diseases. *Journal of clinical medicine*, 10(2), 197.
263. Martins, N., Petropoulos, S., Ferreira, I. C. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, 211, 41-50.
264. Matsha, T. E., Prince, Y., Davids, S., Chikte, U., Erasmus, R. T., Kengne, A. P., Davison, G. M. (2020). Oral microbiome signatures in diabetes mellitus and periodontal disease. *Journal of dental research*, 99(6), 658-665.
265. Maukonen, J., Matto, J., Suihko, M. L., Saarela, M. (2008). Intra-individual diversity and similarity of salivary and faecal microbiota. *Journal of medical microbiology*, 57(12), 1560-1568.
266. McCormack, M. G., Smith, A. J., Akram, A. N., Jackson, M., Robertson, D., Edwards, G. (2015). *Staphylococcus aureus* and the oral cavity: An overlooked source of carriage and infection? *American Journal of Infection Control*, 43(1), 35-37.
267. Mendelson, M., Røttingen, J. A., Gopinathan, U., Hamer, D. H., Wertheim, H., Basnyat, B., Butler, C., Tomson, G., Balasegaram, M. (2016). Maximising access to achieve appropriate human antimicrobial use in low-income and middle-income countries. *The Lancet*, 387(10014), 188-198.
268. Mendoza-Juache, A., Aranda-Romo, S., Bermeo-Escalona, J. R., Gómez-Hernández, A., Pozos-Guillén, A., Sánchez-Vargas, L. O. (2017). The essential oil of *Allium sativum* as an alternative agent against *Candida* isolated from dental prostheses. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(3), 158-164.

269. Mensch, K., Nagy, G., Nagy, Á., Bródy, A. (2019). Characteristics, diagnosis and treatment of the most common bacterial diseases of the oral cavity. *Orvosi hetilap*, 160(19), 739-746.
270. Merghni, A., Ben Nejma, M., Hentati, H., Mahjoub, A., Mastouri, M. (2014). Adhesive properties and extracellular enzymatic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from oral cavity. *Microbial Pathogenesis*, 73, 7–12.
271. Mertz, D., Frei, R., Jaussi, B., Tietz, A., Stebler, C., Flückiger, U., Widmer, A. F. (2007). Throat swabs are necessary to reliably detect carriers of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*, 45(4), 475-477.
272. Migliorati, C. A., Madrid, C. (2007). The interface between oral and systemic health: the need for more collaboration. *Clinical Microbiology and Infection*, 13, 11-16.
273. Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.
274. Miller, M. B., Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 165-199.
275. Milner JA. 2001. Garlic: the mystical food in health promotion. In: Wildman REC, editor. Handbook of nutraceuticals and functional foods. Florida: CRC Press. p 193–207.
276. Milutinovici, R. A., Chioran, D., Buzatu, R., Macasoi, I., Razvan, S., Chioibas, R., Corlan, I. V., Tanase, A., Horia, C., Popovici, R.A., Dinu, S., Dehelean, C., Scurtu, A., Pinzaru, I., Soica, C. (2021). Vegetal compounds as sources of prophylactic and therapeutic agents in dentistry. *Plants*, 10(10), 2148.
277. Minty, M., Canceil, T., Serino, M., Burcelin, R., Tercé, F., Blasco-Baque, V. (2019). Oral microbiota-induced periodontitis: a new risk factor of metabolic diseases. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 20, 449-459.
278. Mirabadi, M., Azadeghan Qomi, H., Didehdar, M. (2019). *In vitro* activities of garlic essential oil against *Candida* species. *Tabari Biomedical Student Research Journal*, 1(1), 12-17.
279. Mirahmadi, S. F., Norouzi, R., and Ghorbani Nohooji, M. (2017). The Influence of drying treatments on the essential oil content and composition of *Melissa officinalis* L. compared with the fresh sample. *Journal of Medicinal Plants*, 16(61), 68-78.
280. Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X., Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae family. *Molecules*, 19(12), 20034-20053.
281. MoARD. 2011. Standardization of antimicrobial susceptibility testing in the veterinary medicine at the national level, according to WHO recommendations. Ministry of Agriculture

and Rural Development, Ministry of Health, Population and Hospital Reform (Democratic and Popular Republic of Algeria, 6th Edn.

282. Mohammad, S. G., Raheel, S. A., Baroudi, K. (2014). Clinical and radiographic evaluation of *Allium sativum* oil as a new medicament for vital pulp treatment of primary teeth. *Journal of international oral health: JIOH*, 6(6), 32.

283. Mohammad, S. G., Raheel, S. A., Baroudi, K. (2015). Histological Evaluation of *Allium sativum* Oil as a New Medicament for Pulp Treatment of Permanent Teeth. *The journal of contemporary dental practice*, 16(2), 85-90.

284. Morales-González, J. A., Madrigal-Bujaidar, E., Sánchez-Gutiérrez, M., Izquierdo-Vega, J. A., Valadez-Vega, M. D. C., Álvarez-González, I., Morales-González, Á., Madrigal-Santillán, E. (2019). Garlic (*Allium sativum* L.): A brief review of its antigenotoxic effects. *Foods*, 8(8), 343.

285. Motamayel, F. A., Hassanpour, S., Alikhani, M. Y., Poorolajal, J., Salehi, J. (2013). Antibacterial effect of eucalyptus (*globulus Labill*) and garlic (*Allium sativum*) extracts on oral Cariogenic bacteria. *J Microbiol Res Rev*, 1(2), 12-7.

286. Moumene, F., Benali-Toumi, F., Benabderrahman, M., Benyamina, A., Selem, H., Dif, M. M. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Allium vineale* and *Allium sativum* of west Algerian. *Phytothérapie*, 14, 170-175.

287. Mugao, L. G., Gichimu, B. M., Muturi, P. W., Mukono, S. T. (2020). Characterization of the volatile components of essential oils of selected plants in Kenya. *Biochemistry Research International*, 2020.

288. Munson, M. A., Banerjee, A., Watson, T. F., Wade, W. G. (2004). Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *Journal of clinical microbiology*, 42(7), 3023-3029.

289. Mutlu-Ingok, A., Devencioglu, D., Dikmetas, D. N., Karbancioglu-Guler, F., Capanoglu, E. (2020). Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: An updated review. *Molecules*, 25(20), 4711.

290. Muylaert, A., Mainil, J. (2012). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur" contagiosité". In *Annales de Medecine vétérinaire* (Vol. 156). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.



291. Nadkarni, M. A., Caldon, C. E., Chhour, K. L., Fisher, I. P., Martin, F. E., Jacques, N. A., Hunter, N. (2004). Carious dentine provides a habitat for a complex array of novel Prevothella-like bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 42(11), 5238-5244.

292. Naidu, M., Robles-Sikisaka, R., Abeles, S. R., Boehm, T. K., Pride, D. T. (2014). Characterization of bacteriophage communities and CRISPR profiles from dental plaque. *BMC microbiology*, 14, 1-13.
293. Nardi, G. M., Grassi, R., Ndokaj, A., Antonioni, M., Jedlinski, M., Rumi, G., Grocholewicz, K., Dus-Ilnicka, I., Grassi, F. R., Ottolenghi, L., Mazur, M. (2021). Maternal and Neonatal Oral Microbiome Developmental Patterns and Correlated Factors: A Systematic Review—Does the Apple Fall Close to the Tree?. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5569.
294. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1999. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test, 9th International Supplement. M100-S9, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
295. Nazzaro, F., Polito, F., Amato, G., Caputo, L., Francolino, R., D’Acierno, A., ... and De Feo, V. (2022). Chemical Composition of Essential Oils of Bulbs and Aerial Parts of Two Cultivars of *Allium sativum* and Their Antibiofilm Activity against Food and Nosocomial Pathogens. *Antibiotics*, 11(6), 724
296. Ndoye Foe, F. M. C., Tchingang, T. F. K., Nyegue, A. M., Abdou, J. P., Yaya, A. J. G., Tchinda, A. T., ... and Etoa, F. X. (2016). Chemical composition, *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-12.
297. Neu, H. C. (1993). ORAL β -LACTAM ANTIBIOTICS FROM 1960 TO 1993. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 2(6), 394-404.
298. Ng, H. M., Kin, L. X., Dashper, S. G., Slakeski, N., Butler, C. A., Reynolds, E. C. (2016). Bacterial interactions in pathogenic subgingival plaque. *Microbial Pathogenesis*, 94, 60-69.
299. Nguyen-Hieu, T., Khelaifia, S., Aboudharam, G., Drancourt, M. (2013). Methanogenic archaea in subgingival sites: a review. *Apmis*, 121(6), 467-477.
300. Nicastro, H. L., Ross, S. A., Milner, J. A. (2015). Garlic and onions: their cancer prevention properties. *Cancer prevention research*, 8(3), 181-189.
301. Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo*. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515.
302. Nogueira, J. H., Gonzalez, E., Galleti, S. R., Facanali, R., Marques, M. O., Felício, J. D. (2010). *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Microbiology*, 137(1), 55-60.
303. Nomura, R., Otsugu, M., Hamada, M., Matayoshi, S., Teramoto, N., Iwashita, N., Naka, S., Matsumoto-Nakano, M., Nakano, K. (2020). Potential involvement of *Streptococcus mutans*

possessing collagen binding protein Cnm in infective endocarditis. *Scientific reports*, 10(1), 19118.



304. Obata, J., Fujishima, K., Nagata, E., Oho, T. (2019). Pathogenic mechanisms of cariogenic *Propionibacterium acidifaciens*. *Archives of Oral Biology*, 105, 46-51.

305. Odds, F. C., Bernaerts, R. I. A. (1994). CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *Journal of clinical microbiology*, 32(8), 1923-1929.

306. Ohara-Nemoto, Y., Haraga, H., Kimura, S., Nemoto, T. K. (2008). Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal–oral trafficking of the bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 57(1), 95-99.

307. Öhman, S. C., Österberg, T., Dahlén, G., Landahl, S. (1995). The prevalence of *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* species, and *Candida* species and their relation to oral mucosal lesions in a group of 79-year-olds in Göteborg. *Acta Odontologica Scandinavica*, 53(1), 49-54.

308. Omar, S.H., Garlic and Cardiovascular Diseases. *Natural Products*, 2013. pp. 3661–3696.



309. Pa, W. (2002). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved standard. *CLSI document M27-A2*.

310. Pallasch, T. J. (2003). Antibiotic resistance. *Dental Clinics*, 47(4), 623-639.

311. Panpatil, V. V., Tattari, S., Kota, N., Nimgulkar, C., Polasa, K. (2013). *In vitro* evaluation on antioxidant and antimicrobial activity of spice extracts of ginger, turmeric and garlic. *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry*, 2(3), 143-148.

312. Park, J., Park, H., Lee, S. (2013). Enhancement of erythrosine photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* by chlorhexidine. *Journal of the Korean Academy of Pediatric Dentistry*, 40(4), 241-246.

313. Pârvu, M., Moș, C. A., Pârvu, A. E., Mircea, C., Stoeber, L., Roșca-Casian, O., Țigu, A. B. (2019). *Allium sativum* extract chemical composition, antioxidant activity and antifungal effect against *Meyerozyma guilliermondii* and *Rhodotorula mucilaginosa* causing onychomycosis. *Molecules*, 24(21), 3958.

314. Passariello, C., Thaller, M. C., Selan, L., Berlutti, F., de Luca, M., Renzini, G. (1991). Periodontal regeneration procedures may induce colonization by glycocalyx-producing bacteria. *Medical microbiology and immunology*, 180, 67-72.
315. Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J. A., Dewhirst, F. E. (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontology 2000*, 42(1), 80-87.
316. Pedersen, A. M. L., Bardow, A., Nauntofte, B. (2005). Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjögren's syndrome. *BMC Clinical Pathology*, 5(1), 1-13.
317. Pedersen, A. M. L., Belstrøm, D. (2019). The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. *Journal of dentistry*, 80, S3-S12.
318. Peng, X., Cheng, L., You, Y., Tang, C., Ren, B., Li, Y., Xu, X., Zhou, X. (2022). Oral microbiota in human systematic diseases. *International journal of oral science*, 14(1), 14.
319. Perangin-angin, S., Pratama, D. A. (2022). Isolation and Analysis of Chemical Components of Garlic (*Allium sativum* L.) Tuber Essential Oil As Well As Antibacterial and Antioxidant Activity Tests. *Journal of Chemical Natural Resources*, 4(1), 18-27.
320. Perlroth, J., Choi, B., Spellberg, B. (2007). Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical mycology*, 45(4), 321-346.
321. Petersen, P. E. (2004). Challenges to improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *International dental journal*, 54, 329-343.
322. Petersen, P. E., Bourgeois, D., Ogawa, H., Estupinan-Day, S., Ndiaye, C. (2005). The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bulletin of the world health organization*, 83, 661-669.
323. Petrovska, B.B.; Cekovska, S. Extracts from the history and medical properties of garlic. *Pharmacogn. Rev.* 2010, 4, 106–110
324. Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G., Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*, 3: 17030.
325. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
326. Preza, D., Olsen, I., Aas, J. A., Willumsen, T., Grinde, B., Paster, B. J. (2008). Bacterial profiles of root caries in elderly patients. *Journal of clinical microbiology*, 46(6), 2015-2021.

327. Pride, D. T., Salzman, J., Haynes, M., Rohwer, F., Davis-Long, C., White, R. A., ... Relman, D. A. (2012). Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *The ISME journal*, 6(5), 915-926.
328. Pye, A. D., Lockhart, D. E. A., Dawson, M. P., Murray, C. A., Smith, A. J. (2009). A review of dental implants and infection. *Journal of Hospital infection*, 72(2), 104-110.

Q

329. Qi, Y., Wu, H. M., Yang, Z., Zhou, Y. F., Jin, L., Yang, M. F., Wang, F. Y. (2022). New insights into the role of oral microbiota dysbiosis in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 67(1), 42-55.

R

330. Radaic, A., Kapila, Y. L. (2021). The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 1335-1360.
331. Radulovic, N., Dekic, M., Stojanovic-Radic, Z. O. R. I. C. A., Palic, R. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Geranium columbinum* L. and *G. lucidum* L. (Geraniaceae). *Turkish Journal of Chemistry*, 35(3), 499-512.
332. Rahimi, G., Khodavandi, A., Jannesar, R., Alizadeh, F., Yaghoobi, R., Sadri, A. (2014). Evaluation of antifungal effects of ethanolic and aqueous extracts of *Zataria multiflora* herb in the pathogenic yeast *Candida albicans* biofilm inhibition. *J. Pure Appl. Microbiol*, 8, 4559-4564.
333. Rasooli, I., Owlia, P. (2005). Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry*, 66(24), 2851-2856.
334. Rauf, A., Abu-Izneid, T., Thiruvengadam, M., Imran, M., Olatunde, A., Shariati, M. A., Bawazeer, S., Naz, S., Shirooie, S., Sanches-Silva, A., Farooq, U., Kazhybayeva, G. (2022). Garlic (*Allium sativum* L.): Its chemistry, nutritional composition, toxicity, and anticancer properties. *Current topics in medicinal chemistry*, 22(11), 957-972.
335. Read, A. F., Woods, R. J. (2014). Antibiotic resistance management. *Evolution, medicine, and public health*, 2014(1), 147.
336. Read, E., Curtis, M. A., Neves, J. F. (2021). The role of oral bacteria in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(10), 731-742.

337. Reyam Abdul Khuder Mohammed, Sohaib fadhil Mohammed, Mustafa Salah Hasan. (2022). Isolation of tooth caries bacterial pathogens. *Revista Iberoamericana de Psicología del Ejercicio y el Deporte*. Vol. 17, no 5 : 272- 274
338. Rezaie, A., Parker, R. D., Abdollahi, M. (2007). Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause?. *Digestive diseases and sciences*, 52, 2015-2021.
339. Ríos, J. L. (2016). Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 3-10). Academic Press.
340. Rivlin, R. S. (2001). Historical perspective on the use of garlic. *The Journal of nutrition*, 131(3), 951S-954S.
341. Roberts, M. C., Soge, O. O., Horst, J. A., Ly, K. A., Milgrom, P. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from dental school clinic surfaces and students. *American journal of infection control*, 39(8), 628-632.
342. Rôças, I. N., Lima, K. C., Assunção, I. V., Gomes, P. N., Bracks, I. V., Siqueira Jr, J. F. (2015). Advanced caries microbiota in teeth with irreversible pulpitis. *Journal of endodontics*, 41(9), 1450-1455.
343. Roh, J., Kim, K. R. (2018). Antimicrobial activity of Korean propolis extracts on oral pathogenic microorganisms. *Journal of Dental Hygiene Science*, 18(1), 18-23.
344. Rokadiya, S., Malden, N. J. (2008). An implant periapical lesion leading to acute osteomyelitis with isolation of *Staphylococcus aureus*. *British dental journal*, 205(9), 489-491.
345. Rozwandowicz, M., Brouwer, M. S. M., Fischer, J., Wagenaar, J. A., Gonzalez-Zorn, B., Guerra, B., Mevius, D. J., Hordijk, J. (2018). Plasmids carrying antimicrobial resistance genes in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(5), 1121-1137.



346. Sá, R. D. C. D. S. E., Nalone Andrade, L., dos Reis Barreto de Oliveira, R., de Sousa, D. P. (2014). A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. *Molecules*, 19(2), 1459-1480.
347. Sadeghi Zali, M. H., Yousefi, S., Hashempour, A., Hashempour, N., Seyedgholizadeh, S. (2016). Evaluation of *In vitro* Antifungal Activity of Garlic, Thyme, Aloe Vera, and Cinnamon Essential Oils Against *Candida albicans*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus Niger* and *Mucor Himalis*. *Report of Health Care*, 2(1), 22-28.
348. Sadgrove, N. J., Padilla-González, G. F., Phumthum, M. (2022). Fundamental chemistry of essential oils and volatile organic compounds, methods of analysis and authentication. *Plants*, 11(6), 789.

349. Sahani, S., Mishra, S., Sharma, Y. C. (2021). Micro and Nanoengineered Structures in Food Sector. *Sustainable Agriculture Reviews 55: Micro and Nano Engineering in Food Science Vol 1*, 1-31.
350. Saikiran, K. V., Kamatham, R., Sahiti, P. S., Nuvvula, S. (2018). Pulpotomy medicaments in primary teeth: A literature review of natural alternatives. *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, 9(4), 181.
351. Sampaio-Maia, B., Caldas, I. M., Pereira, M. L., Pérez-Mongiovi, D., Araujo, R. (2016). The oral microbiome in health and its implication in oral and systemic diseases. *Advances in applied microbiology*, 97, 171-210.
352. Sampaio-Maia, B., Monteiro-Silva, F. (2014). Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: An update. *Dental research journal*, 11(3), 291.
353. San Millan, A. (2018). Evolution of plasmid-mediated antibiotic resistance in the clinical context. *Trends in microbiology*, 26(12), 978-985.
354. Sanders, 2012
355. Sanders, P. (2013). La résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail*, (3), 53-55.
356. Santhosha, S. G., Jamuna, P., Prabhavathi, S. N. (2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food bioscience*, 3, 59-74.
357. Sara, Z., Nihel, K. K., Ilhem, B., Amina, H., Nadia, A., Fatima, N., et Lotfi, G. (2015). Oral microflora of supragingival and subgingival biofilms in Algerian healthy adults. *African Journal of Microbiology Research*, 9(23), 1548-1557.
358. Sasi, M., Kumar, S., Kumar, M., Thapa, S., Prajapati, U., Tak, Y., Changan, S., Saurabh, V., Kumari, S., Kumar, A., Hasan, M., Chandran, D., Radha, Bangar, S. P., Dhumal, S., Senapathy, M., Thiyagarajan, A., Alhariri, A., Dey, A., Singh, S., Prakash, S., Pandiselvam, R., Mekhemar, M. (2021). Garlic (*Allium sativum* L.) bioactives and its role in alleviating oral pathologies. *Antioxidants*, 10(11), 1847.
359. Satyal, P., Craft, J. D., Dosoky, N. S., Setzer, W. N. (2017). The chemical compositions of the volatile oils of garlic (*Allium sativum*) and wild garlic (*Allium vineale*). *Foods*, 6(8), 63.
360. Scannapieco, F. A. (2013). The oral microbiome: its role in health and in oral and systemic infections. *Clinical Microbiology Newsletter*, 35(20), 163-169.
361. Schlecht, L. M., Peters, B. M., Krom, B. P., Freiberg, J. A., Hänsch, G. M., Filler, S. G., Jabra-Rizk, M. A., Shirtliff, M. E. (2015). Systemic *Staphylococcus aureus* infection mediated by *Candida albicans* hyphal invasion of mucosal tissue. *Microbiology*, 161(Pt 1), 168.
362. Schmid-Schönbein, G. W. (2006). Analysis of inflammation. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 8, 93-151.

363. Schneiderman, M. T., Cartee, D. L. (2020). Surface disinfection. *Infection Control in the Dental Office: A Global Perspective*, 169-191.
364. Schulze-Schweifing, K., Banerjee, A., Wade, W. G. (2014). Comparison of bacterial culture and 16S rRNA community profiling by clonal analysis and pyrosequencing for the characterization of the dentine caries-associated microbiome. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 164.
365. Sedghi, L., DiMassa, V., Harrington, A., Lynch, S. V., Kapila, Y. L. (2021). The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*, 87(1), 107-131.
366. Segura-Egea, J. J., Velasco-Ortega, E., Torres-Lagares, D., Velasco-Ponferrada, M. D. C., Monsalve-Guil, L., Llamas-Carreras, J. M. (2010). Pattern of antibiotic prescription in the management of endodontic infections amongst Spanish oral surgeons. *International endodontic journal*, 43(4), 342-350.
367. Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., Amrane, A. A., Benia, A. R., Hammoudi, S. M., Kaidi, R., Boukraa, L. (2018). Enteropathogens associated with neonatal calves diarrhea in Tiaret area (Western Algeria). *Veterinaria*, 67(2).
368. Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., and Ait Amrane, A. (2020). Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 2352-2358.
369. Selwitz, R. H., Ismail, A. I., Pitts, N. B. (2007). Dental caries. *The Lancet*, 369(9555), 51-59.
370. Seminario, A., Broukal, Z., Ivancakova, R. (2005). Mutans streptococci and the development of dental plaque. *Prague Med. Rep.*, 106(4), 349-358.
371. Setiawan, F., Sunariani, J., Yudianto, A., Mooduto, L., Radhianto, E. (2020). Capsaicin's Inhibition Effects on Biofilm *Aerococcus viridans*. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 14(3), 1906-1912.
372. Seydou, H. I., Fatiha, K., Yousra, H., Siyam, H., Arous, S., Abdessamad, D. (2023, February). A rare case of arterial thrombosis secondary to *Aerococcus viridans* aortic endocarditis. In *Annales de Cardiologie et D'angiologie* (pp. S0003-3928).
373. Seymour, G. J., Cullinan, M. P., Heng, N. C., Cooper, P. R. (Eds.). (2022). *Oral biology: molecular techniques and applications* (Vol. 2588). Springer Nature.
374. Shang, Q., Gao, Y., Qin, T., Wang, S., Shi, Y., Chen, T. (2020). Interaction of oral and toothbrush microbiota affects oral cavity health. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 17.

375. Sharara, S. L., Maragakis, L. L., Cosgrove, S. E. (2021). Decolonization of *Staphylococcus aureus*. *Infectious Disease Clinics*, 35(1), 107-133.
376. Sharma, N., Bhatia, S., Sodhi, A. S., Batra, N. (2018). Oral microbiome and health. *AIMS microbiology*, 4(1), 42.
377. Shen, Y., Zhao, J., De La Fuente-Núñez, C., Wang, Z., Hancock, R. E., Roberts, C. R., ... Wang, Q. (2016). Experimental and theoretical investigation of multispecies oral biofilm resistance to chlorhexidine treatment. *Scientific reports*, 6(1), 27537.
378. Shooriabi, M. (2021). Effects of *Allium sativum* (Garlic) and Its Derivatives on Oral Diseases: A Narrative Review.
379. Singh, G., Kapoor, I. P. S., Singh, P., de Heluani, C. S., de Lampasona, M. P., Catalan, C. A. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and chemical toxicology*, 46(10), 3295-3302.
380. Siqueira Jr, J. F., Rôças, I. N. (2013). As-yet-uncultivated oral bacteria: breadth and association with oral and extra-oral diseases. *Journal of oral microbiology*, 5(1), 21077.
381. Siqueira, J. F., Rôças, I. N. (2017). The oral microbiota in health and disease: an overview of molecular findings. *Oral Biology: Molecular Techniques and Applications*, 127-138.
382. Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Chaiyasut, C. (2020). A review of the role of probiotic supplementation in dental caries. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12, 1300-1309.
383. Sizova, M. V., Hohmann, T., Hazen, A., Paster, B. J., Halem, S. R., Murphy, C. M., Panikov, N. S., Epstein, S.S. (2012). New approaches for isolation of previously uncultivated oral bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 78(1), 194-203.
384. Small, H., Casey, A. L., Elliott, T. S., Rollason, J., Hilton, A. C., and Ball, S. (2007). The oral cavity—an overlooked site for MRSA screening and subsequent decolonisation therapy?. *Journal of Infection*, 55(4), 378-379.
385. Socransky, S. S., Gibbons, R. J., Dale, A. C., Bortnick, L., Rosenthal, E., Macdonald, J. B. (1963). The microbiota of the gingival crevice area of man—I: Total microscopic and viable counts and counts of specific organisms. *Archives of oral biology*, 8(3), 275-280.
386. Somamno, S. R., Saratan, N., Suksathan, R., Pusadee, T. (2016). Chemical composition and comparison of genetic variation of commonly available Thai garlic used as food supplement. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89.
387. Soylu, E. M., Soylu, S., Kurt, S. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161, 119-128.

388. Springman, A. C., Lacher, D. W., Wu, G., Milton, N., Whittam, T. S., Davies, H. D., Manning, S. D. (2009). Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *Journal of bacteriology*, 191(17), 5419-5427.
389. Stahl-Biskup, E., Sáez, F. (Eds.). (2002). *Thyme: the genus Thymus*. CrC press.
390. Stephen M. Suru and Chidiebere E. Ugwu. (2016). HISTORICAL PERSPECTIVE AND FOLKLORIC USE OF GARLIC; in *Allium sativum*. Nova Science Publishers, p1.
391. Struzycka, I. (2014). The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*, 63(2): 127-35.
392. Štšepetova, J., Truu, J., Runnel, R., Nõmmela, R., Saag, M., Olak, J., Nõlvak, H., Preem, J. K., Oopkaup, K., Krjutškov, K., Honkala, E., Honkala, S., Mäkinen, K., Mäkinen, P. L., Vahlberg, T., Vermeiren, J., Bosscher, D., de Cock, P., Mändar, R. (2019). Impact of polyols on Oral microbiome of Estonian schoolchildren. *BMC Oral Health*, 19(1), 1-10.
393. Su, C., Huang, K., Li, H. H., Lu, Y. G., Zheng, D. L. (2020). Antibacterial properties of functionalized gold nanoparticles and their application in oral biology. *Journal of Nanomaterials*, 2020, 1-13.
394. Sukumar, S., Martin, F. E., Hughes, T. E., Adler, C. J. (2020). Think before you prescribe: how dentistry contributes to antibiotic resistance. *Australian Dental Journal*, 65(1), 21-29.
395. Sun, D., Jeannot, K., Xiao, Y., Knapp, C. W. (2019). Horizontal gene transfer mediated bacterial antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*, 10, 1933.
396. Sweeney, L. C., Dave, J., Chambers, P. A., Heritage, J. (2004). Antibiotic resistance in general dental practice—a cause for concern? *Journal of Antimicrobial chemotherapy*, 53(4), 567-576.
397. Sykes, L. M., Said, M., Ehlers, M., Mateis, S. M., van Dyk, C., Dullabh, H. D. (2019). Microbial contamination of denture polishing equipment. *South African Dental Journal*, 74(3), 116-122.

J

398. Tada, A., Senpuku, H., Motozawa, Y., Yoshihara, A., Hanada, N., Tanzawa, H. (2006). Association between commensal bacteria and opportunistic pathogens in the dental plaque of elderly individuals. *Clinical microbiology and infection*, 12(8), 776-781.
399. Takasaki, A. A., Aoki, A., Mizutani, K., Schwarz, F., Sculean, A., Wang, C., Koshy, G., Romanos, G., Ishikawa, I., Izumi, Y. (2009). Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontology 2000*, 51(1), 109-140.

400. Takenaka, S., Ohsumi, T., Noiri, Y. (2019). Evidence-based strategy for dental biofilms: Current evidence of mouthwashes on dental biofilm and gingivitis. *Japanese Dental Science Review*, 55(1), 33-40.
401. Takeshita, T., Kageyama, S., Furuta, M., Tsuboi, H., Takeuchi, K., Shibata, Y., Shimazaki, Y., Akifusa, S., Ninomiya, T., Kiyohara, Y., Yamashita, Y. (2016). Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions: the Hisayama Study. *Scientific reports*, 6(1), 22164.
402. Tanner, A. C. R., Kressirer, C. A., Rothmiller, S., Johansson, I., Chalmers, N. I. (2018). The caries microbiome: implications for reversing dysbiosis. *Advances in dental research*, 29(1), 78-85.
403. Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 134, 103580.
404. Teoh, L., Stewart, K., Marino, R., McCullough, M. (2018). Antibiotic resistance and relevance to general dental practice in Australia. *Australian dental journal*, 63(4), 414-421.
405. Tien, Y. Y., Ng, C. C., Chang, C. C., Tseng, W. S., Kotwal, S., Shyu, Y. T. (2005). Studies on the lactic-fermentation of sugar apple (*Annona squamosa* L.) puree. *Journal of Food and Drug analysis*, 13(4), 14.
406. Tilotta, F., Lévy, G., Lautrou, A. (2018). Anatomie dentaire. Elsevier Health Sciences. Tome 2. 6^{ième} édition. AFNOR, Paris.
407. Tongnuanchan, P., Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
408. Torpol, K., Wiriyaacharee, P., Sriwattana, S., Sangsuwan, J., Prinyawiwatkul, W. (2018). Antimicrobia activity of garlic (*Allium sativum* L.) and holy basil (*Ocimum sanctum* L.) essential oils applied by liquid vs. vapour phases. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 2119-2128.
409. Touihri, I., Boukhris, M., Marrakchi, N., Luis, J., Hanchi, B., and Kallech-Ziri, O. (2015). Chemical composition and biological activities of *Allium roseum* L. var. *grandiflorum* Briq. essential oil. *Journal of oleo science*, 64(8), 869-879.
410. Trinetta, V., Morgan, T.M., Couland, J.N. Yucel, U. (2017). Essential oils against pathogen and spoilage microorganism of fruit juice: Use of versatile antimicrobial delivery systems. *Journal of Food Science*, 82, 471–476.
411. Tsai, C. W., Chen, H. W., Sheen, L. Y., Lii, C. K. (2012). Garlic: Health benefits and actions. *BioMedicine*, 2(1), 17-29.

412. Tuominen, H., Rautava, J. (2021). Oral microbiota and cancer development. *Pathobiology*, 88(2), 116-126.
413. Turek, C., Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.

V

414. Valm, A. M. (2019). The structure of dental plaque microbial communities in the transition from health to dental caries and periodontal disease. *Journal of molecular biology*, 431(16), 2957-2969.
415. Van Loi, V., Huyen, N. T. T., Busche, T., Tung, Q. N., Gruhlke, M. C. H., Kalinowski, J., ... Antelmann, H. (2019). *Staphylococcus aureus* responds to allicin by global S-thioallylation—role of the Brx/BSH/YpdA pathway and the disulfide reductase MerA to overcome allicin stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 139, 55-69.
416. Verma, D., Garg, P. K., Dubey, A. K. (2018). Insights into the human oral microbiome. *Archives of microbiology*, 200, 525-540.
417. Verma, T., Aggarwal, A., Dey, P., Chauhan, A. K., Rashid, S., Chen, K. T., Sharma, R. (2023). Medicinal and therapeutic properties of garlic, garlic essential oil, and garlic-based snack food: An updated review. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1120377.
418. Vickers, N. J. (2017). Animal communication: when I'm calling you, will you answer too?. *Current biology*, 27(14), R713-R715.
419. Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular plant*, 3(1), 2-20.
420. Volgenant, C. M. C., De Soet, J. J. (2018). Cross-transmission in the dental office: does this make you ill?. *Current oral health reports*, 5, 221-228.

W

421. Wade, W. G. (2013). Characterisation of the human oral microbiome. *Journal of Oral Biosciences*, 55(3), 143-148.
422. Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*, 69(1), 137-143.
423. Walker, C. B. (1996). The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontology 2000*, 10(1), 79-88.

424. Wang, H. W., Liu, Y. Q., Wei, S. L., Yan, Z. J., Lu, K. (2010). Comparison of microwave-assisted and conventional hydrodistillation in the extraction of essential oils from mango (*Mangifera indica* L.) flowers. *molecules*, 15(11), 7715-7723.
425. Wang, J., Cao, Y., Sun, B., Wang, C. (2011). Physicochemical and release characterisation of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes. *Food chemistry*, 127(4), 1680-1685.
426. Waseem, R., Low, K. H. (2015). Advanced analytical techniques for the extraction and characterization of plant-derived essential oils by gas chromatography with mass spectrometry. *Journal of separation science*, 38(3), 483-501.
427. White, A., et Hughes, J. M. (2019). Critical importance of a one health approach to antimicrobial resistance. *EcoHealth*, 16, 404-409.
428. Widyarman, A. S., and Theodorea, C. F. (2019). Effect of reuterin on dual-species biofilm *in vitro* of *Streptococcus mutans* and *Veillonella parvula*. *Journal of International Dental and Medical Research*, 12(1), 77-83.
429. Williams, R. E. O., Hirsch, A., Cowan, S. T. (1953). *Aerococcus*, a new bacterial genus. *Microbiology*, 8(3), 475-480.
430. World Health Organization. (2012). *The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action*. World Health Organization.
431. Xiao, J., Fiscella, K. A., Gill, S. R. (2020). Oral microbiome: possible harbinger for children's health. *International journal of oral science*, 12(1), 12.

g

432. Yaacob, M., Worthington, H. V., Deacon, S. A., Deery, C., Walmsley, A. D., Robinson, P. G., Glenny, A. M. (2014). Powered versus manual toothbrushing for oral health. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (6).
433. Yadav, K., Prakash, S. (2015). Antibiofilm profiles against polymicrobial pathogens among dental caries patients at Janaki Medical College teaching hospital, Nepal. *Int. J. Appl. Dent. Sci*, 1, 156-162.
434. Yadav, K., Prakash, S. (2017). Dental caries: A microbiological approach. *J Clin Infect Dis Pract*, 2(1), 1-15.
435. Yang, C., Li, L., Yang, L., Lü, H., Wang, S., Sun, G. (2018). Anti-obesity and Hypolipidemic effects of garlic oil and onion oil in rats fed a high-fat diet. *Nutrition and metabolism*, 15(1), 1-8.

436. Yap, P. S. X., Yiap, B. C., Ping, H. C., Lim, S. H. E. (2014). Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The open microbiology journal*, 8, 6.
437. Yasin, G., Jasim, S. A., Mahmudiono, T., Al-Shawi, S. G., Shichiyakh, R. A., Shoukat, S., Kadhim, A. J., Iswanto, A. H., Saleh, M. M., Fenjan, M. (2022). Investigating the effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil on foodborne pathogenic microorganisms. *Food Science and Technology*, 42.
438. Yen, G. C., and Duh, P. D. (1993). Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(4), 383-386.
439. Yoo, S. Y., Park, S. J., Jeing, D. K., Kim, K. W., Lim, S. H., Lee, S. H., Choe, S. J., Chang, Y. H., Park, I. S., Kook, J. K. (2007). Isolation and Characterization of the Mutans Strep- tococci from the Dental Plaques in Koreans. *The Journal of Microbiology*, 45 (3): 246-255.
440. Yoshimoto, N., Saito, K. (2019). S-Alk(en)ylcysteine sulfoxides in the genus *Allium*: Proposed biosynthesis, chemical conversion, and bioactivities. *Journal of experimental botany*, 70(16), 4123-4137.

Z

441. Zarco, M. F., Vess, T. J., Ginsburg, G. S. (2012). The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral diseases*, 18(2), 109-120.
442. Zarrin M, Amirrajab N, Nejad B S. 2010. *In vitro* antifungal activity of *Satureja khuzestanica* jamzad against *Cryptococcus neoformans*. *Pak J Med Sci*. 26 (4): 880- 882.
443. Zemouri, C., de Soet, H., Crielaard, W., Laheij, A. (2017). A scoping review on bio-aerosols in healthcare and the dental environment. *PloS one*, 12(5), e0178007.9.
444. Zhang, L. Y., Fang, Z. H., Li, Q. L., Cao, C. Y. (2019). A tooth-binding antimicrobial peptide to prevent the formation of dental biofilm. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 30, 1-9.
445. Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 99, 883-893.
446. Zimmerli, M., Widmer, A. F., Dangel, M., Filippi, A., Frei, R., Meyer, J. (2009). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among dental patients: a problem for infection control in dentistry?. *Clinical oral investigations*, 13, 369-373.

447. Zouari Chekki, R., Snoussi, A., Imen Hamrouni, I., Nabiha Bouzouita, N. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. Mediterranean Journal of Chemistry, 3(4) : 947-956.

Annexes

Annexe I : Composition de quelques milieux de culture utilisés.

BHIB : Bouillon cœur cervelle	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Infusion cœur-cervelle (matières solides)	8.0
Digestion peptique de tissu animal	5.0
Digestion pancréatique de caséine	16.0
Chlorure de sodium	5.0
Glucose	2.0
Phosphate d'hydrogène disodique	2.5
Gélose	13.5
pH = 7.4 ± 0.2	

Gélose MacConkey	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Peptone pancréatique de gélatine	17,00
Tryptone	1,00
Peptone pepsique de viande	1,50
Lactose	10,0
Sels biliaires	1,50
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0.030
Cristal violet	0.001
Agar bactériologique	13,5
pH = 7.1 ± 0.2.	

Gélose müller –Hinton	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Infusion de viande de bœuf	2,00
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon	1.50
Agar	17.0
pH 7.4 ± 0.2	

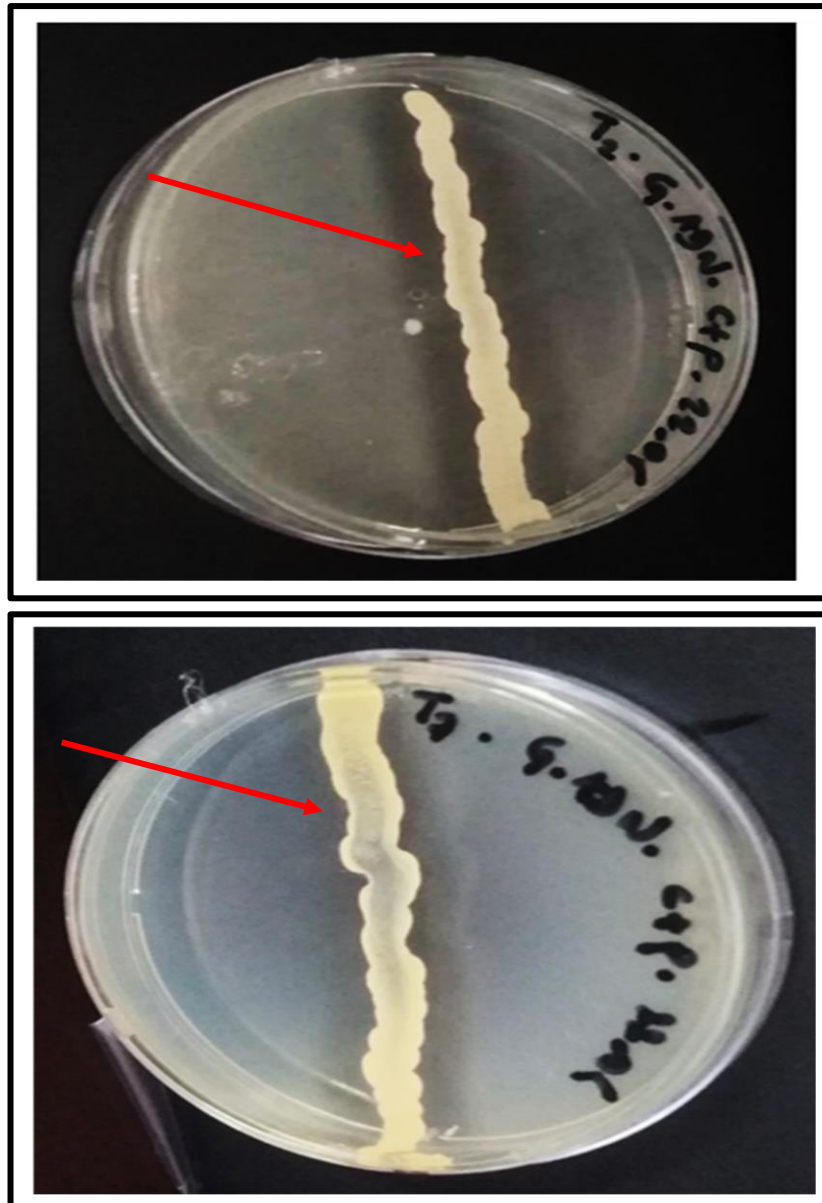
Bouillon müller –Hinton	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Infusion de viande de bœuf	2,00
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon	1.50
pH = 7.4 ± 0.2	

Sabouraud + chloramphénicol	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Glucose	20
Peptone	10
Agar agar	15
Chloramphenicol	0.5
pH = 6	

Sabouraud + chloramphénicol + chlorure de 2, 3, 5-triphenyl-tetrazolium (TTC)	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Sabouraud dextrose 2%	44.60
Chloramphénicol	0.25
Gentamicine	0.10
TTC	0.05
pH = 6	

Milieu chromagar <i>Candida</i>	
Ingrédients	Quantités (gramme/litre)
Mélange de peptone	10
Mélange chromogène spécial	22
Chloramphénicol	0.5
Agar peptone	15

Annexe II : Résultats du test de la recherche de la DNase



Apparition d'une zone claire autour de la strie :
Résultat positif (Flèche rouge).

Annexe III : Résultats de l'indentification bactérienne par galeries Api

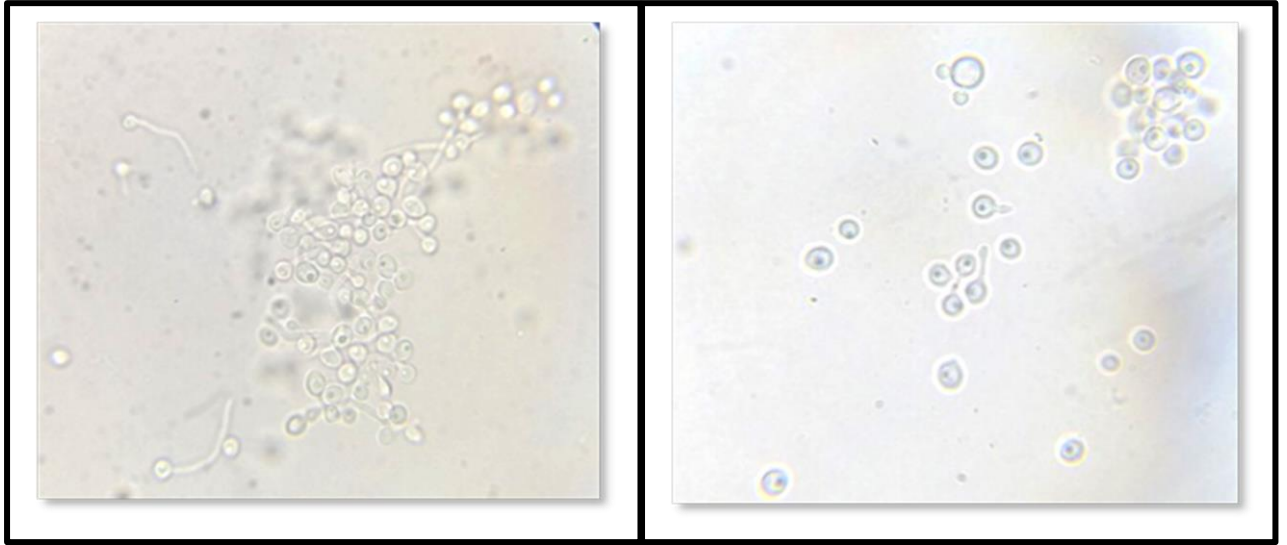


Résultats de la galerie Api Staph.

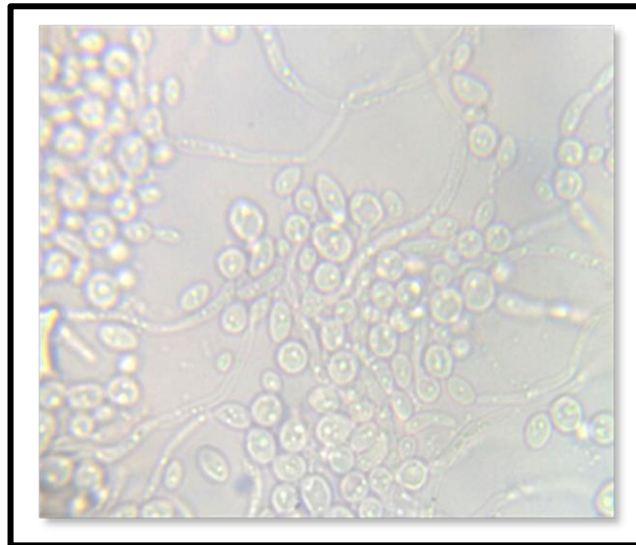


Résultats de la galerie Api 20^E.

Annexe IV : Résultats de l'indentification des *Candida albicans*

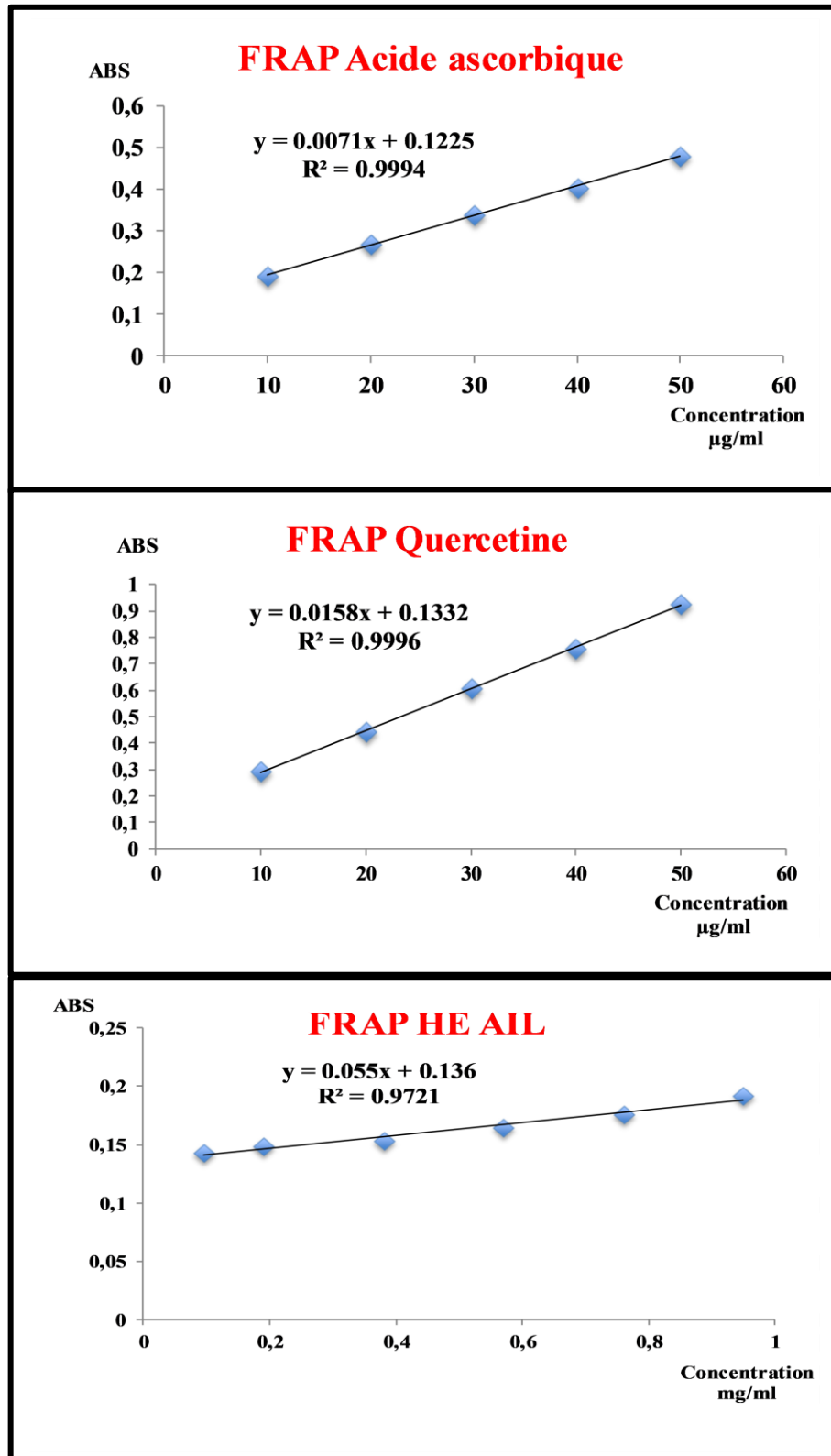


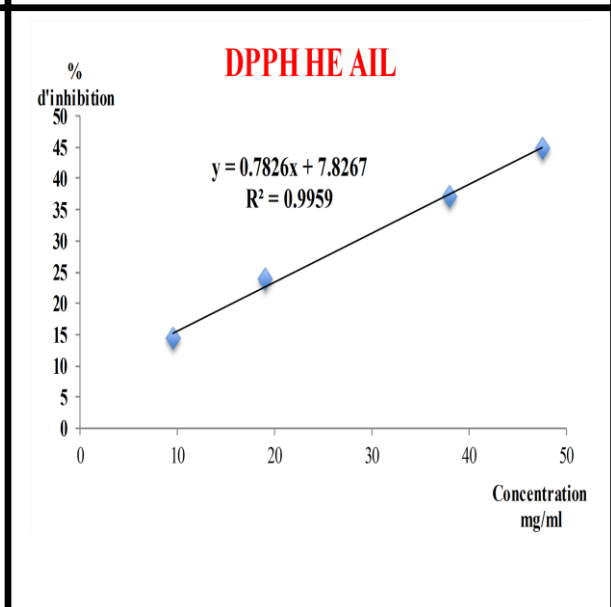
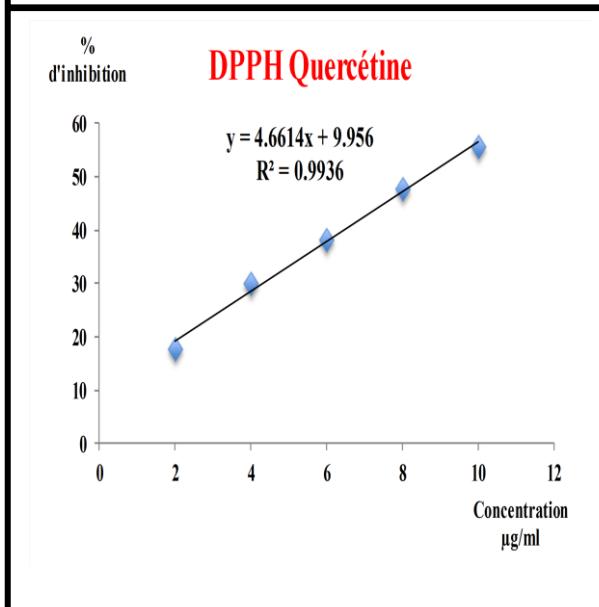
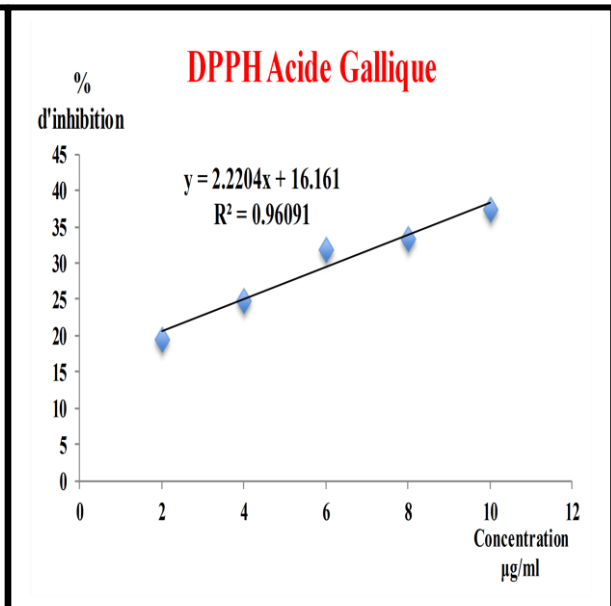
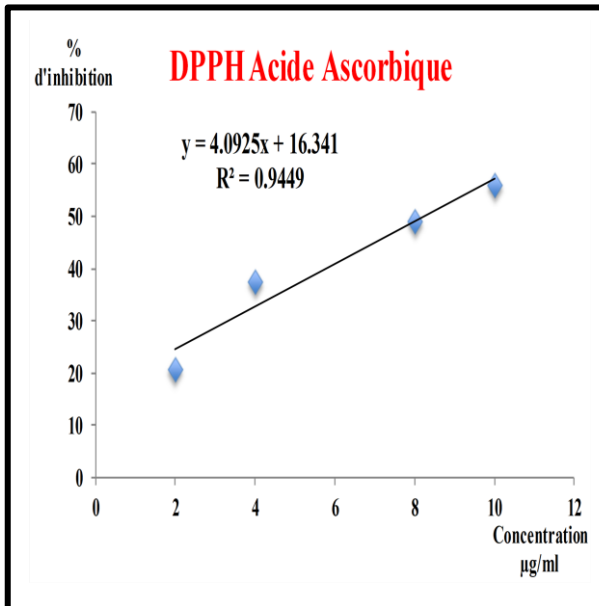
Resultat du test de Blastèse



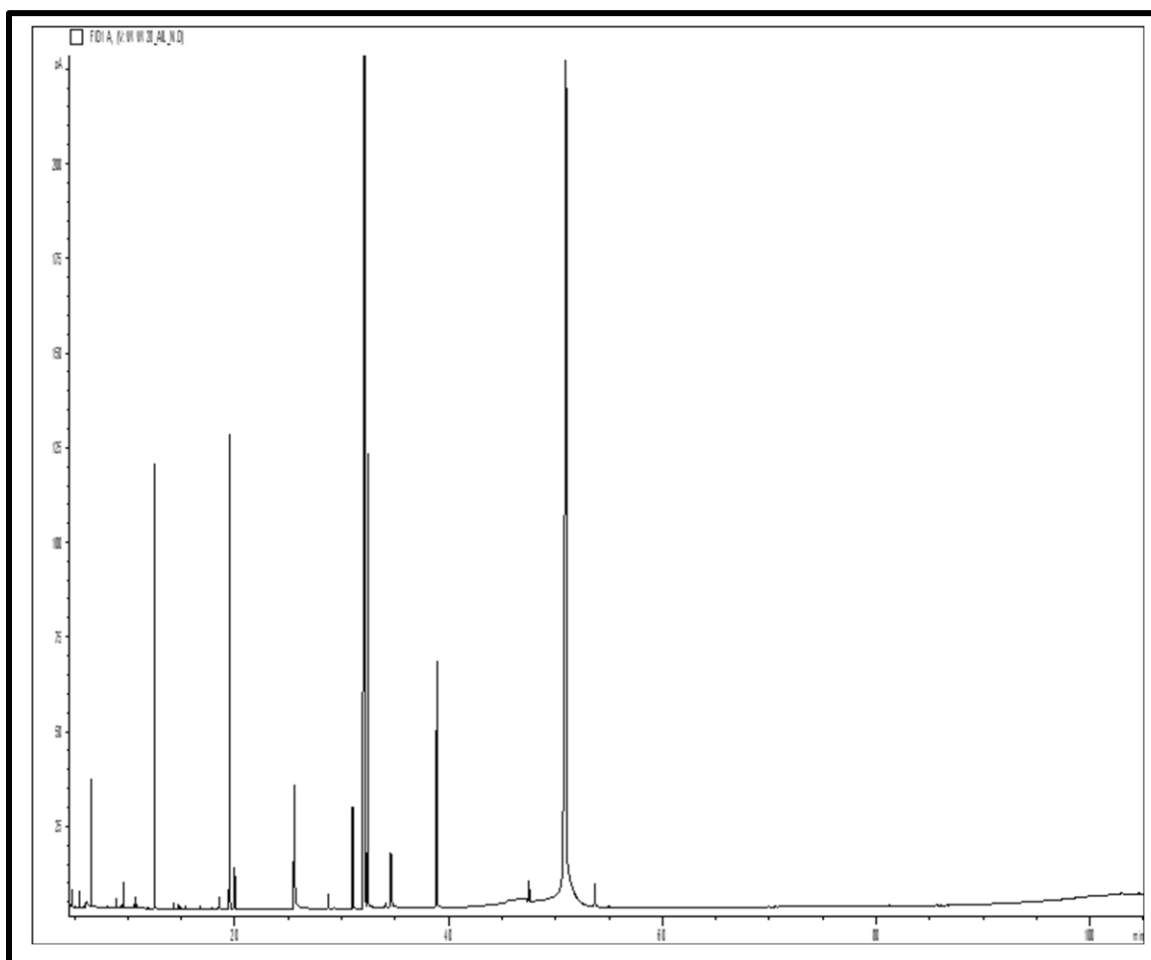
Resultat du Test de chlamydo sporulation

Annexe V : Activités antioxydantes

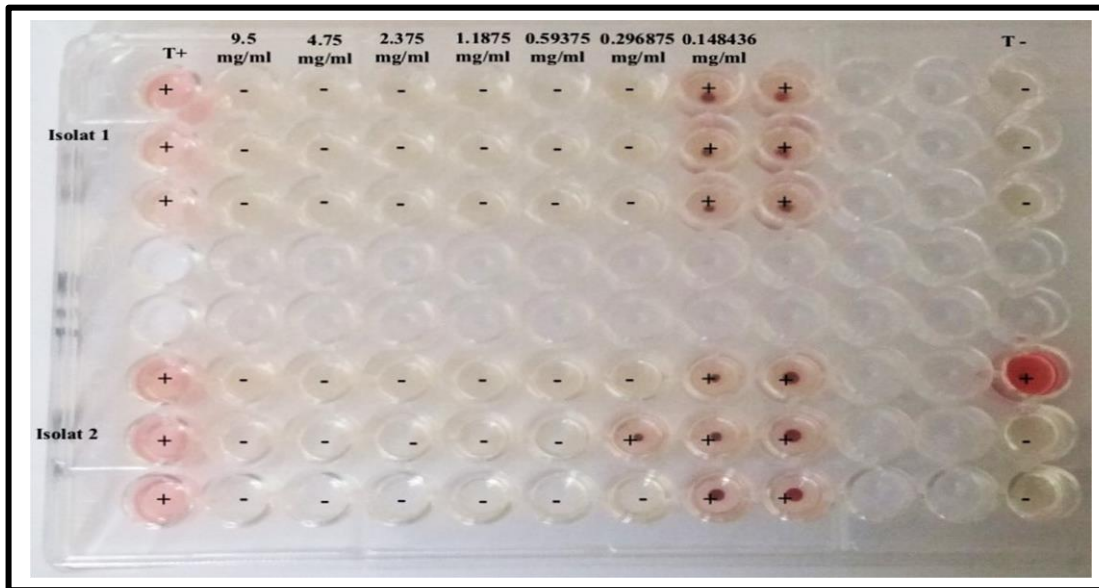




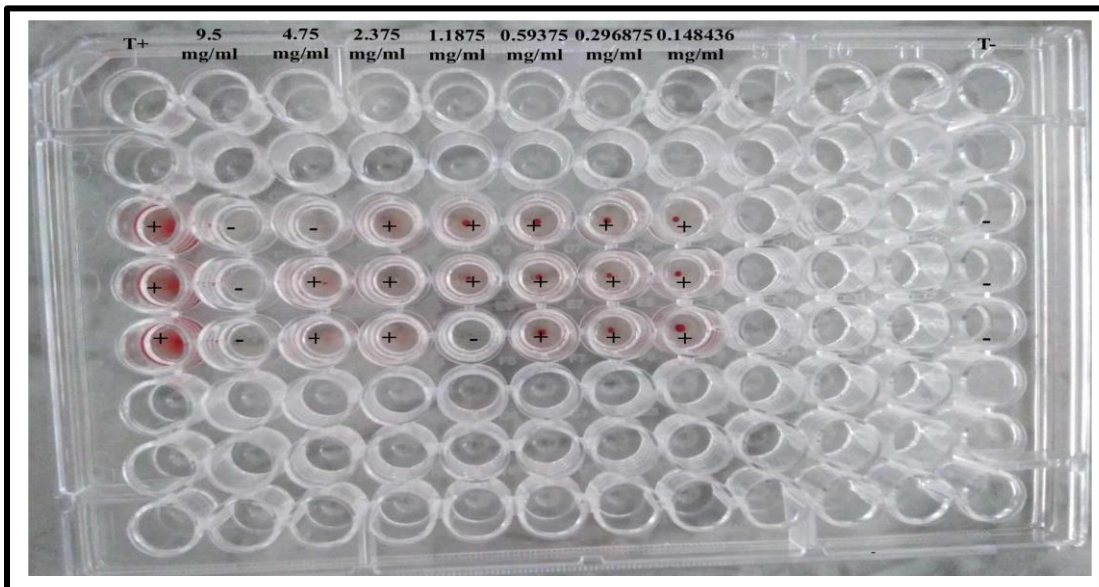
Annexe VI : Profil chromatographique (CG-MS/CG-FID)

Profil chromatographique d'huile essentielle d'*Allium sativum* L.

Annexe VII : Résultats de l'aromatogramme : méthode des microdilution



Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis de deux isolats de *Candida albicans*.



Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis d'un isolat d'*Aerococcus viridans*.



CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF *ALLIUM SATIVUM* L. ESSENTIAL OIL AGAINST MDR BACTERIA ISOLATED FROM BUCCAL CAVITY AFFECTED BY CARIES

Ould Amer Imane^{1,2}, Selles Sidi Mohammed Ammar^{3,4*}, Laaredj Hocine¹, Dilmi Bouras Abdelkader⁵ and Kadari Yamina^{4,6}

¹Faculty of Life and Nature Sciences, University of Tiaret, Tiaret 14000, Algeria

²Laboratory of Agro-Biotechnology and Nutrition in Semi-Arid Areas, University of Tiaret, Tiaret 14000, Algeria

³Laboratory of Research on Local Animal Products, University of Tiaret, Tiaret 14000, Algeria

⁴Institute of veterinary sciences, University of Tiaret, Tiaret 14000, Algeria

⁵Laboratory of natural bioresources, Université de Chlef Hassiba Benbouali, Chlef 2000, Algeria

⁶Laboratory of Farm Animal Reproduction, University of Tiaret, Algeria

Natural remedies have proven to be very effective and have fewer side effects than commercial antibiotics. The objectives of this work were to determine the chemical compounds and biological (antibacterial and antioxidant) activities of *Allium sativum* L. essential oil against three multi-drug strains of bacteria isolated from buccal cavity affected by caries namely *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis*, and *S. xylosus*. The essential oil was extracted by hydrodistillation, chemical compounds were quantified by gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography with flame ionization detection. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and ferric reducing power were used to study antioxidant activity. Antibacterial activity was carried out by the disk diffusion method. The average yield of the essential oil was $0.173 \pm 0.009\%$ (w/w). All tested strains were resistant to three different classes of antibiotics. Diallyl disulfide (39.22%) and diallyl trisulfide (34.85%) were the main components of *Allium sativum* L. essential oils. DPPH radical scavenging assay showed the median inhibitory concentration (IC_{50}) value of 51.12 ± 11.77 mg/ml, while the ferric reducing power assay recorded the median effective concentration (EC_{50}) value of 6.54 ± 0.63 mg/ml. The results showed that all multidrug-resistant bacteria strains tested are sensitive to essential oils. The results indicate that *Allium sativum* L. essential oil exercises good in-vitro antibacterial and weak to moderate in-vitro antioxidant activities.

Keywords: *Allium sativum* L., essential oil, antibacterial activity, antioxidant activity, multidrug-resistant bacteria

INTRODUCTION

Nowadays, natural remedies have proven to be very effective and have fewer side effects than commercial antibiotics. These natural products have various therapeutic activities such as antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, antifungal, etc.¹ as well as their efficacies in the treatment of various oral diseases such as pulpitis, periodontitis, gingivitis, stomatitis, herpes labialis, oral candidiasis, dental plaque,

and oral cancers². Some potential sources of natural compounds are essential oils, which exert an antimicrobial, antiseptic, anti-inflammatory, and antioxidant activity. These aromatic compounds are described as a combination of volatile constituents produced as secondary metabolites by aromatic plants³.

One of the best plants used since ancient times in folk medicine, traditional or modern, is garlic (*Allium sativum* L.)⁴⁻⁸. It is belonging to the family of the Amaryllidaceae⁹⁻¹⁰ and it has

been widely used as a raw vegetable for culinary purposes⁶.

Garlic essential oil has potent antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria such as *E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Shigella senteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* spp., and *Proteus mirabilis*¹¹ and fungi¹². Nazzaro et al.¹³ reported that the antioxidant and antibacterial activities of garlic are due to its bioactive chemical compound allicin (diallyl thiosulfinate). It is an unstable compound found only in fresh crushed garlic^{11,14}, and easily broken down into allyl sulfides, allyl disulfides, and allyl trisulfides, which are the main compounds of garlic essential oils¹⁵.

About 700 species of bacteria naturally colonize the mouth¹⁶, which exhibits commensalism, symbiosis, and pathogenic relationships with the host¹⁷. The composition of the oral microbiota can be modified following a modification of homeostasis by several factors such as chemical interactions with enzymes or microorganisms, reduction in salivary flow, reduction in the production of immunoglobulins, and the presence of proteases and neuraminidase in the oral cavity¹⁷ and/or in people with different systemic deficiencies, e.g., diabetes mellitus, neutropenia, agranulocytosis, and AIDS¹⁸. These modifications will allow the colonization of the oral cavity by Gram-negative microorganisms and strains resistant to multiple antimicrobials¹⁷. In addition to the emergence and spread of drug resistance, dysbiosis of the microbiome as a result of antibiotic overuse is increasingly associated with a wide range of oral diseases¹⁹⁻²¹.

The objectives of this work were to determine the chemical compounds and biological (antibacterial and antioxidant) activities of *Allium sativum* L. essential oil against three multi-drug strains of bacteria isolated from the buccal cavity with caries (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* and *Aerococcus viridians*).

MATERIALS AND METHODS

Extraction of essential oil

The bulbs of garlic (*Allium sativum* L.) were freshly purchased from the local market in Tiaret City (Western Algeria). The plant parts were peeled, cleaned, and prepared for extraction. One hundred and fifty grams of dried

garlic bulbs were crushed and macerated for 1h with 500 ml of distilled water. The extraction of essential oil was performed by hydrodistillation for 1h 30' of the mixture. The obtained essential oil was dehydrated with anhydrous sodium sulfate (Na₂SO₄)²² weighted and stored at 4 °C in sealed brown flasks until use. The yield was calculated using the following equation:

$$\text{Yield of essential oil (\%)} = \left[\frac{\text{essential oil weight (g)}}{\text{sample weight (g)}} \right] \times 100$$

Analysis of essential oil

Gas chromatography (GC-FID)/gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) of *Allium sativum* essential oil was carried out method previously described by Selles et al.²³ by Pyrenessences Analysis Sarl according to ISO 11024.

Antimicrobial study

Ethics statement

This study was approved and validated by the scientific committee of the Faculty of Life and Nature Sciences, University Ibn Khaldoun, Tiaret, Algeria, and registered under the number 516/VRPG/2018.

Microorganisms

Three clinical strains of bacteria (*Aerococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Staphylococcus xylosus*) provided by the Microbiology Laboratory of Veterinary Institute (University of Tiaret, Algeria) were used for the assessment of *in-vitro* antimicrobial activity of the *Allium sativum* essential oils.

The strains were isolated from patients suffering from dental caries and before use, bacteria were inoculated in enriched blood agar [Columbia agar base supplemented with 5% blood] for 24 h at 37°C under 5% CO₂ condition for *Aerococcus viridans* and in Chapman agar media for *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus epidermidis* for 24hrs at 37°C.

The bacterial suspension was then diluted in sterile saline water (0.85% NaCl) to provide initial cell counts of about 1–5 × 10⁸ CFU/ml.

Disk diffusion method

The agar disc diffusion method was performed to assess the antimicrobial susceptibility of bacteria and the antibacterial

potential of the essential oil, based on the measurement of the zone of inhibition after incubation (disc diameter included) using a ruler²⁴.

The plates were inoculated with the suspension adjusted on Mueller-Hinton agar for *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus epidermidis* and Mueller-Hinton agar supplemented with 5% blood for *Aerococcus viridans* by a cotton swab.

After drying, the sterile filter paper disc (diameter 6 mm/Whatman No. 40) pre-impregnated with 5µL of essential oil was placed on their surface. The plates were incubated for 24 hours at 37°C under 5% CO₂ for *Aerococcus viridans* and 24 hours at 37°C for the other bacteria.

This sensitivity was classified according to Ponce et al.²⁵ as follows: Resistant for a diameter less than 8 mm; sensitive for a diameter of 9–14 mm; very sensitive for a diameter of 15–19 mm and extremely sensitive for a diameter larger than 20 mm. All tests were carried out in triplicate and the results were expressed as mean values ± standard deviation (SD).

The susceptibility of isolates to a panel of antimicrobial agents was determined by using commercial antimicrobial discs according to the recommendations of the Standardization of Antimicrobial Susceptibility Testing in Human and Veterinary Medicine²⁶. The following antimicrobial agents, loaded on the disks, were tested: Gentamicin (10µg), chloramphenicol (30µg), tetracycline (10µg), sulfamethoxazole (25µg), ofloxacin (5µg), erythromycin (15µg), cefoxitin (30µg), Spiramycine (100 µg), Oxacilline (1µg), and vancomycin (30µg).

Antioxidant activity 2, 2-diphenyl -1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging Assay

The DPPH radical scavenging assay was assessed according to the method described previously²⁷. Two ml of final concentrations of garlic essential oil (10.84mg/ml to 54.2 mg/ml) were added to 0.4 mL of 0.5mM ethanol solution of DPPH. After 30 min at room temperature, the absorbance was recorded at 517 nm. Inhibition of free radical DPPH in percent (DPPH I%) was calculated as follows:

$$\text{DPPH I\%} = \left[\frac{(\text{A blanc} - \text{A sample})}{\text{A blanc}} \right] \times 100$$

Synthetic antioxidants (quercetin, gallic acid, and ascorbic acid) were used as a positive control. The antiradical activity was expressed as IC₅₀ (mg/ml). IC₅₀ was calculated from the plotted graph of scavenging activity against the sample and standard concentration. All tests were carried out in triplicate and the results were expressed as mean values ± standard deviation (SD).

Ferric Reducing power

The reducing power of the essential oil and standard (Quercetin and acid ascorbic) was determined according to the method of Yen and Duh²⁸ with some modifications. A mixture containing an equal volume (2.5 ml) of final concentrations of the essential oil (0.1084 to 1.084 mg/ml) was mixed with phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 1% potassium ferricyanide. After incubation for 20 min at 50 °C. Trichloroacetic acid (2.5ml, 10%) was added to the mixture followed by centrifugation at 3000 rpm for 10 min. One milliliter of supernatant was recovered and mixed with 1 ml of distilled water and 0.5 ml of ferric chloride (0.1%).

Finally, the absorbance was measured at 700 nm. Reducing power assay of the sample and standards were expressed by EC₅₀ value. The EC₅₀ was obtained by interpolation from regression analysis. All tests were carried out in triplicate and the results were expressed as mean values ± standard deviation (SD).

Statistical analysis

One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test of honestly significant difference (HSD) (p<0.05 was used to calculate significant differences using R software (version 3.3.0/2016- 05-03).

RESULTS AND DISCUSSION

Results

Yield and chemical composition of *Allium sativum* L. essential oil

The yield of *Allium sativum* L. essential oil obtained in our study was 0.173 ± 0.009% (w/w). A similar result was reported by Mnayer et al.²⁹, Johnson et al.³⁰, and Haciseferogülları et al.³¹ with a rate of 1300 to 2000 g/t, 0.16%, and 0.14%, respectively. Nevertheless, Douiri et al.³² and Lawrence et al.³³ recorded a higher yield of 0.32% and 0.4% of the plant collected from Moroccan and Indian, respectively. Likewise, Moumene et al.³⁴ and Casella et al.³⁵ cited a

higher garlic essential oil yield of plants collected in west Algeria and that from Italy with a rate of 0.28 %; and 0.30 (w/w) respectively, by using the same mean fresh weight in each extraction procedure. Higher yields using Clevenger equipment, for different drying methods and varying extraction times, have been reported by Herrera-Calderon *et al.*³⁶ with 0.78% (v/dry weight of garlic) for 2 hrs as well as Dziri *et al.*¹ with rates 0.5% and 0.6% (w/w) for oven-dried and freeze-dried samples, respectively for 3 hrs.

Furthermore, variable yields ranging from 0.18% to 0.22% were obtained by using various devices: Clevenger apparatus, industrial hydrodistillation, and steam distillation for an extraction period respectively of 3hrs, 4hrs, and 5hrs³⁷. However, the lowest yields of 0.09% and 0.1% (w/w) essential oil were reported by Khadri *et al.*³⁸ for *Allium sativum* L. bulbs harvested in the Skikda region (Algeria) and Dziri *et al.*¹ using Clevenger equipment for air-dried bulbs for 3 hrs extraction, respectively.

The difference in yield can be influenced by water temperature, distillation time and particle sizes³⁹⁻⁴⁰, and drying of plant material⁴¹.

The composition of *Allium sativum* L. essential oil is presented in **Table 1**. Forty-two components represented 100% of the chemical composition of *Allium sativum* L. essential oil. Diallyl disulfide Mw=146 were the main constituents (39.22%) followed by diallyl trisulfide Mw=178 (34.85%), diallyl disulfide isomer Mw=146 (5.45%), allyl methyl disulfide Mw=120 (5.20%), allyl methyl trisulfide Mw=152 (3.75) and diallyl sulfide Mw=114 (3.70%).

Several previous studies report similarities and differences in the major compounds of garlic essential oils. Mnayer *et al.*²⁹ reported that the main compounds of garlic essential oil were diallyl disulfide (37.90%), diallyl trisulfide (28.06%), allyl methyl trisulfide (7.26%), diallyl sulfide (6.59%), diallyl tetrasulfide (4.14%) and allyl methyl disulfide (3.69%) purchased from a local supermarket in Avignon province (France). Likewise, Sommano *et al.*⁴² showed that the major compounds of essential oil of *Allium*

sativum L. from Mexico are: diallyl disulfide (42.46%), allyl methyl disulfide (15.25%), diallyl trisulfide (12.52%), allyl methyl trisulfide (10.36%), diallyl sulfide (6.96%), Methyl allyl sulfide (3.15%) and diallyl tetrasulfide (1.09%). Whereas Khadri *et al.*³⁸ found that allyl methyl trisulfide (34.61%), diallyl disulfide (31.65%), allyl methyl disulfide (9.27%), diallyl sulfide (6.8%), diallyl trisulfide (1.47%) and diallyl tetrasulfide (4.92%) are the major compounds of *Allium sativum* L. essential oil harvested in the region of El Harrouch in Skikda (Algeria). Garlic essential oils from China, Tunisia, and Egypt were characterized by a chromatographic profile dominated by diallyl trisulfide (35.30% to 50.92%) and diallyl disulfide (27.47% to 29.10%)⁴². The same authors reported that the major compounds of garlic essential oil harvested from Morocco were: Trisulfide, di-2-propenyl (46.52%), disulfide, di-2-propenyl (14.30%), trisulfide, methyl 2-propenyl (10.88%) while this oil contains little diallyl disulfide (0.46%^o) and no diallyl trisulfide⁴².

Moumene *et al.*³⁴ noted that allyl trisulfide and diallyl disulfide are the main components of red and white garlic essential oil grown at the technical institute for market gardening and industrial crops (ITCMI) in the wilaya of Sidi Bel Abbes with varying percentages for each plant.

Satyral *et al.*³⁷ gave the chemical composition of *Allium sativum* L. essential oil collected from Spain and extracted by three different methods namely Clevenger-type hydrodistillation, industrial steam distillation, and industrial hydrodistillation. These authors noted that the chromatographic profile of this oil was dominated by diallyl trisulfide, diallyl disulfide, allyl methyl trisulfide, and allyl methyl disulfide for the Clevenger-type hydrodistillation and industrial hydrodistillation technique with varying concentrations when diallyl disulfide followed by allyl methyl trisulfide, diallyl trisulfide, and allyl methyl disulfide are the main compounds of this essential oil extracted by industrial steam distillation.

Table 1: Chemical composition of *Allium sativum* essential oil.

Peak	RT (min)	Compounds	%
1	5.49	Allyl mercaptan mw=74	0.13
2	5.95	Ethanol	0.02
3	6.12	Methyl-thiirane mw=74	0.07
4	6.55	Sulfure de methyl-allyle mw=88	0.71
5	8.04	Alpha-pinene	0.01
6	8.94	2-Methyl-4-Pental	0.06
7	9.37	Camphene	0.01
8	9.59	Disulfure de dimethyle mw=94	0.19
9	10.59	2-propen-1-ol	0.03
10	10.67	Composé soufré	0.10
11	10.86	Sulfure de propyl-allyle mw=116	0.03
12	12.51	Sulfure de diallyle mw=114	3.70
13	14.32	Sulfure de diallyle isomere mw=114	0.05
14	14.76	Sulfure de diallyle isomere mw=114	0.05
15	15.41	1.8-Cineole	0.03
16	16.76	Disulfure de methyl-propyle mw=122	0.03
17	17.92	2.4-Dimethyl-Thiophene mw=112	0.01
18	18.55	Disulfure de methyl-allyle isomere mw=120	0.13
19	19.55	Disulfure de methyl-allyle mw=120	5.28
20	20.01	Disulfure de methyl-allyle isomere mw=120	0.44
21	25.58	Trisulfure de dimethyle mw=126	2.34
22	28.78	Tisulfure de propyl-allyle isomere mw=148	0.17
23	29.29	Tisulfure de propyl-allyle isomere mw=148	0.01
24	29.32	Isochrysanthenone	0.02
25	31.04	Disulfure de diallyle isomere mw=146	1.28
26	32.22	Disulfure de diallyle mw=146	39.22
27	32.49	Disulfure de diallyle isomere mw=146	5.45
28	34.10	Camphre	0.05
29	34.62	Composé thiourée	0.99
30	35.02	Trisulfure de methyl-propyle mw=154	0.03
31	38.93	Trisulfure de methyl-allyle mw=152	3.75
32	47.29	Composé mw=180	0.03
33	47.55	3-Vinyl-1.2-Dithiacyclohex-4-ene mw=144	0.31
34	51.02	Trisulfure de diallyle mw=178	34.85
35	53.70	3-Vinyl-1.2-Dithiacyclohex-5-ene mw=144	0.31
36	55.04	Composé mw=166	0.03
37	70.67	Composé alcool	0.01
38	73.93	Composé aromatique	0.01
39	75.29	Eugenol	0.01
40	81.27	Composé soufré	0.02
41	85.62	Composé aromatique	0.01
42	102.97	Acide palmitique	0.04
		Total	100.00

Antioxidant activity

In our study, the antioxidant activity of garlic essential oil was evaluated by reducing power and DPPH radical scavenging capacity. The reducing power is based on the capacity of antioxidants to reduce ferric ions (Fe^{3+}) to ferrous ions (Fe^{2+}) despite the DPPH assay is based on the scavenging of the stable DPPH• by an antioxidant. **Table 2** summarized the EC_{50} and the IC_{50} values of reducing power and DPPH scavenging activity of *Allium sativum* L. essential oil.

The EC_{50} and IC_{50} values of *Allium sativum* L. essential oil were $6.54 \pm 0.63 \text{ mg/ml}$ and $51.12 \pm 11.77 \text{ mg/ml}$, respectively. These values were very high compared to the standard (**Table. 2**). A very highly significant difference between the standard molecules and the essential oil was observed for Ferric Reducing power ($P > 0.001$) while a highly significant difference was observed between the standard molecules and the essential oil for DPPH ($P > 0.01$).

Ndoye Foe et al.⁴³ reported that the EC_{50} of *Allium sativum* L. essential oil was $5.33 \pm 0.01 \mu\text{g AAE/mg}$ this value is 1000-fold lower than that registered in this study.

Most studies have demonstrated low IC_{50} compared to that obtained in the current study, ranging from 0.5 mg/ml to 7.67 mg/ml ^{29,33,36}. Nevertheless, Akinyemi et al.⁴⁴ observed a significant difference in DPPH free radical scavenging capacity between garlic essential oil ($\text{IC}_{50} = 24.8 \mu\text{g/ml}$) and ascorbic acid ($\text{IC}_{50} = 61.5 \mu\text{g/ml}$).

The antioxidant activity of garlic is due to its richness in sulfur compounds that represent the main constituents of this essential oils²⁹. In the current study, the main compound of *Allium sativum* L. essential oil was diallyl disulfide (39.22%) followed by diallyl trisulfide (34.85%). However, diallyl disulfide isomer,

allyl methyl disulfide, allyl methyl trisulfide, and diallyl sulfide were present in smaller amounts. Although the presence of diallyl disulfide and diallyl trisulfide in garlic oil breaks the chain of free radicals through the donation of hydrogen atoms neutralizing DPPH radicals and consequently increases antioxidant activity⁴⁵. Amorati et al.⁴⁶⁻⁴⁷ reported that diallyl disulfide and allyl methyl sulfide have no antioxidant activity as inhibitors of the controlled auto-oxidation of isopropylbenzene or styrene. These same authors have suggested that these compounds are oxidized with the oxidizable substrate. Nevertheless, water-soluble garlic has higher antioxidant activity than garlic oil because water-soluble garlic is made up of N-acetylcysteine, a derivative of the amino acid L-cysteine that has the highest antioxidant activity among organosulfur compounds. Additionally, previous studies have shown that garlic has stable organosulfur compounds, flavonoids, and polyphenols and that phenolic compounds are more effective antioxidants than non-phenolic compounds such as allyl sulfide⁴⁵.

Antibacterial activity

In the present study, all strains tested are resistant to at least one class of antibiotic. However, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus xylosus* were resistant to three class strains. While *Aerococcus viridans* was resistant to four classes of antibiotics (**Table 3**).

Based on the most frequent definition of multi-drug resistance proposed by Magiorakos et al.⁴⁸ for Gram-positive and Gram-negative bacteria are "resistant to three or more classes of antimicrobials", all strains used in this study were considered multi-resistant, namely: *Aerococcus viridans*; *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus xylosus*.

Table 2: Antioxidant activity of *Allium sativum* essential oil in reducing power and DPPH assays.

	Reducing power (EC_{50}) mg/ml	DPPH (IC_{50}) mg/ml
Quercetin	$24.62 \pm 1.95 \times 10^{-3} \text{ a}$	$8.52 \pm 0.52 \times 10^{-3} \text{ a}$
Gallic acid	-	$12.86 \pm 3.37 \times 10^{-3} \text{ a}$
Ascorbic acid	$53.31 \pm 0.21 \times 10^{-3} \text{ a}$	$8.39 \pm 0.24 \times 10^{-3} \text{ a}$
<i>Allium sativum</i> essential oil	$6.54 \pm 0.63 \text{ b}$	$51.12 \pm 11.77 \text{ b}$

Each value in the table is represented as mean \pm SD ($n = 3$). Means not sharing the same letter are significantly different (LSD) at $P < 0.05$ probability level in each column.

Table 3: Antibacterial susceptibility of tested strains.

Class	Antibiotics	A	B	C
Sulfonamides	STX	S	R	-
Aminosides	GN	S	S	-
Fluoroquinolones	OFX	S	S	-
Phenicols	C	S	S	S
Tetracyclines	TE	R	R	R
Macrolides	E	R	R	-
	SR	-	-	R
Betalactams	OXA	R	R	-
	FOX	-	-	R
Glycopeptides	VAC	-	-	R

A : *Staphylococcus epidermidis* ; B : *Staphylococcus xylosus* ; C : *Aerococcus viridans*.

sulfamethoxazole ; GN : Gentamicine ; OFX : Ofloxacin ; C : Chloramphenicol ; TE : tetracycline ; E : erythromycine ; SR : Streptomycine ; OXA : Oxacilline ; Fox : Cifoxitin ; VAC : Vancomycine.

Table 4 summarizes the results of the Antibacterial activity of *Allium sativum* essential oil towards strains studied. The inhibition diameter of *Allium sativum* L. essential oil against tested strains varies from 9mm to 15.66 mm.

In our study, *Allium sativum* L. essential oil exhibited good *in-vitro* antibacterial activity towards strains tested. Based on strain sensitivity to essential oils classified by Ponce et al.²⁵ *Staphylococcus epidermidis* and *Aerococcus viridans* were classified as sensitive to the antibacterial activity of *Allium sativum* essential oil. Whereas, *Staphylococcus xylosus* have been classified as very sensitive to the antibacterial activity of *Allium sativum* L. essential oil (**Table 4**).

Table4: Antibacterial activity of *Allium sativum* essential oil.

Isolats	Inhibition Diameter (mm)*
<i>Aerococcus viridans</i>	9 ± 1.63
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14.33 ± 1.15
<i>Staphylococcus xylosus</i>	15.66 ± 0.58

* Inhibition Diameter (mm) including disk diameter of 6.0 mm.

Several studies report a higher activity of *Allium sativum* L. essential oils against *Staphylococcus aureus* with a ranging inhibition diameter from 18 to 20mm^{29,49}. Nevertheless, the

study conducted by Zouari Chekki et al.⁵⁰ reports a low activity of *Allium sativum* L. essential oils against *Staphylococcus aureus* (12 mm). Whereas, inhibition diameters of 10.2mm, 11mm, and 11.5mm were registered for concentrations of 5%, 10%, and 15% of *Allium sativum* L. essential oil respectively against *Staphylococcus aureus* by Pratama and Perangin-angin⁵¹. Evenly, Moumene et al.³⁴ reports that *Allium sativum* L. essential oils exhibited a sensitive *in vitro* antibacterial activity towards *Staphylococcus aureus* (inhibition diameters vary from 9mm to 11mm). Likewise, weak inhibition ranging from 6.3mm to 9.3 mm was shown at various concentrations of *Allium sativum* L. essential oils varying from 50ml/l to 500ml/l against *Staphylococcus aureus*⁵². Nonetheless, a complete inhibition (90 mm) against *Staphylococcus aureus* exerted by the essential oil *Allium sativum* L. was noted by Torpol et al.⁷

This good antibacterial activity of the essential oil of garlic is due to its richness in organosulfide compounds. Bhatwalkar et al.¹² reports « two main mechanisms of action of garlic organosulfur compounds emerged from the reported studies: (1) the reaction of garlic compounds to the free sulfhydryl group on the proteins and/or enzymes to inactivate them, and (2) the disruption of composition and integrity of bacterial cell membrane and/or cell wall. Besides, some work also suggests that garlic compounds could also have a global effect on DNA, RNA, and protein synthesis ».

Conclusions

This study found that diallyl groups were the major active compounds in *Allium sativum* L. essential oils. These groups include diallyl disulfide and diallyl trisulfide. However, this essential oil exhibited good *in-vitro* antimicrobial activity against all tested microorganisms and a weak to moderate *in-vitro* antioxidant. Nevertheless, further and expanded investigations will be needed to confirm and justify the potential use of this oil as an antibacterial agent against multi-drug strains of bacteria isolated from buccal cavity affected by caries

Acknowledgments

The authors would like to thank the staff of the microbiology laboratory of the Faculty of Life and Nature Sciences and the Institute of Veterinary Sciences (University of Tiaret) specifically Mrs. Ismail Lila and Miss Ait Naaman Karima for their valuable collaboration during this study.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest in this study.

REFERENCES

1. S. Dziri, H. Casabianca, B. Hanchi and K. Hosni, "Composition of garlic essential oil (*Allium sativum* L.) as influenced by drying method", *J Essent Oil Res*, 26(2), 91-96 (2014).
2. M. Sasi, S. Kumar, M. Kumar, S. Thapa, U. Prajapati, Y. Tak, *et al.*, "vcGarlic (*Allium sativum* L.) bioactives and its role in alleviating oral pathologies", *Antioxidants*, 10(11), 1847 (2021).
3. E. D. S. Ferreira, P. L. Rosalen, B. Benso, J. de Cassia Orlandi Sardi, *et al.*, "The use of essential oils and their isolated compounds for the treatment of oral candidiasis: a literature review", *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 1059274 (2021).
4. R. S. Rivlin, "Historical perspective on the use of garlic", *J Nutr*, 131, 951S-954S (2001).
5. J. Wang, Y. P. Cao, B. G. Sun and C. T. Wang, "Physicochemical and release characterization of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes", *Food Chem*, 127, 1680-1685 (2011).
6. N. Martins, S. Petropoulos and I. C. F. R. Ferreira, "Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review", *Food Chem*, 211, 41-50 (2016).
7. K. Torpol, P. Wiriyacharee, S. Sriwattana, J. Sangsuwan and W. Prinyawiwatkul, "Antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum* L.) and holy basil (*Ocimum sanctum* L.) essential oils applied by liquid vs. vapour phases", *Int J Food Sci Technol*, 53(9), 2119-2128 (2018).
8. M. M. Kshirsagar, A.S. Dodamani, G. N. Karibasappa, P. K. Vishwakarma, J. B. Vathar, K. R. Sonawane, H. C. Jadhav and V.R. Khobragade, "Antibacterial activity of garlic extract on cariogenic bacteria: An in vitro study", *Ayu*, 39(3), 165-168 (2018).
9. G. Yasin, S. A. Jasim, T. Mahmudiono, S. G. Al-Shawi, R. A. Shichiyakh, S. Shoukat, A. J. Kadhim, A. H. Iswanto, M. M. Saleh and M. Fenjan, "Investigating the effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil on foodborne pathogenic microorganisms", *Food Sci Technol*, 42, (2022).
10. E. Lemma, Z. Yusuf, M. Desta, S. Seyida, M. Idris, S. Mengistu and J. Teneshu, "Physicochemical Properties and Biological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.) Bulb and Leek (*Allium ampeloprasum* L. var. Porrum) Leaf Oil Extracts", *Sci World J*, 2022, 6573754 (2022).
11. E. A. Ibrahim, "In vitro Antimicrobial activity of *Allium sativum* (Garlic) against wound infection pathogens", *Afr J Med Sci*, 2(8), 666-669 (2017).
12. S. B. Bhatwalkar, R. Mondal, S. B. N. Krishna, J. K. Adam, P. Govender and R. Anupam, "Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*)", *Front Microbiol*, 12, 613077 (2021).
13. F. Nazzaro, F. Polito, G. Amato, L. Caputo, R. Francolino, A. D'Acerno, F. Fratianni, V. Candido, R. Coppola and V. De Feo, "Chemical Composition of Essential Oils of Bulbs and Aerial Parts of Two Cultivars of *Allium sativum* and Their Antibiofilm

- Activity against Food and Nosocomial Pathogens", *Antibiotics*, 11(6), 724 (2022).
14. J. Liu, M. S. Mahmood, R. Z. Abbas, A. Dillawar, Z. Nawaz, M. Luqman, A. Abbas, A. Rehman and A. Rafique, "Therapeutic appraisal of ethanolic and aqueous extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) as antimicrobial agent", *Pak J Agric Sci*, 58(1), 245-25 (2021).
 15. G. Hu, K. Cai, Y. Li, T. Hui, Z. Wang, C. Chen, B. Xu and D. Zhang, "Significant inhibition of garlic essential oil on benzo [a] pyrene formation in charcoal-grilled pork sausages relates to sulfide compounds", *Food Res Int*, 141, 110127 (2021).
 16. Y. Zhang, X Wang, H. Li, C. Ni, Z. Du and F. Yan, "Human oral microbiota and its modulation for oral health", *Biomed Pharmacother*, 99, 883-893 (2018).
 17. A. S. D. C. Cruz, Y. P. Fidelis, D. de Mendonça Guimarães, H. S. Muller, V. P. Martins and E. N. Lia, "Oral health and the presence of infectious microorganisms in hospitalized patients: a preliminary observational study", *Ann Med*, 54(1), 1908-1917 (2022).
 18. A. I. Cuesta, V. Jewtuchowicz, M. I. Brusca, M. L. Nastri and A. C. Rosa, "Prevalence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the oral cavity and periodontal pockets of periodontal disease patients", *Acta Odontol Latinoam*, 23, 20–26 (2010).
 19. J. Roh and K. R. Kim, "Antimicrobial activity of Korean propolis extracts on oral pathogenic microorganisms", *J Dent Hyg Sci*, 18(1), 18-23 (2018).
 20. V. V. Panpatil, S. Tattari, N. Kota, C. Nimgulkar and K. Polasa, "In vitro evaluation on antioxidant and antimicrobial activity of spice extracts of ginger, turmeric and garlic", *J Pharmacogn Phytochem*, 2(3), 143-148 (2013).
 21. C. Su, K. L. Huang, H. H. Li, Y. G. Lu and D. L. Zheng, "Antibacterial properties of functionalized gold nanoparticles and their application in oral biology", *J Nanomater*, 2020, 5616379 (2020).
 22. S. Eyob, B. K. Martinsen, A. Tsegaye, M. Appelgren and G. Skrede, "Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima*) ((Braun) P.C.M. Jansen)", *Afr J Adv Biotechnol*, 7, 2585–2592 (2008).
 23. S. M.A. Selles, M. Kouidri, Y. Bellik, A.A. Amrane, B.T. Belhamiti, A. R. Benia, S. M. Hammoudi and L. Boukraa, "Chemical Composition, Antioxidant and In vitro Antibacterial Activities of Essential Oils of *Mentha spicata* Leaf from Tiaret Area (Algeria)", *Dhaka Univ J Pharm Sci*, 17(1), 87–96 (2018).
 24. E. Mills, E. Sullivan and J. Kovac, "Comparative analysis of *Bacillus cereus* group isolates' resistance using disk diffusion and broth microdilution and the correlation between antimicrobial resistance phenotypes and genotypes", *Appl Environ Microbiol*, 88(6), e0230221 (2022).
 25. A. G. Ponce, R. Fritz, C. Del Valle and S. I. Roura, "Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard", *LWT - Food Sci Technol*. 36(7), 679-684 (2003).
 26. MoARD: Standardization of antimicrobial susceptibility testing in the veterinary medicine at the national level, according to WHO recommendations. Ministry of Agriculture and Rural Development, Ministry of Health, Population and Hospital Reform (Democratic and Popular Republic of Algeria) (2011).
 27. Y. Y. Lim, T. T. Lim and J. J. Tee, "Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study", *Food Chem*, 103(3), 1003-1008 (2007).
 28. G. C. Yen and P. D. Duh, "Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls", *J Am Oil Chem Soc*, 70(4), 383-386 (1993).
 29. D. Mnayer, A. S. Fabiano-Tixier, E. Petitcolas, T. Hamieh, N. Nehme, C. Ferrant, X. Fernandez and F. Chemat, "Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae family", *Molecules*, 19(12), 20034-20053 (2014).
 30. O. O. Johnson, G. A. Ayoola and T. Adenipekun, "Antimicrobial activity and the chemical composition of the volatile oil blend from *Allium sativum* (Garlic Clove) and *Citrus reticulata* (Tangerine Fruit)", *Int*

- J Pharm Sci Drug Res*, 5(4), 187-193 (2013).
31. H. Haciseferoğulları, M. Özcan, F. Demir and S. Çalışır, "Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.)", *J Food Eng*, 68(4), 463-469 (2005).
 32. L. F. Douiri, A. Boughdad, O. Assobhei and M. Moumni, "Chemical composition and biological activity of *Allium sativum* essential oils against *Callosobruchus maculatus*", *Toxicol Food Technol*, 3(1), 30-36 (2013).
 33. R. Lawrence and K. Lawrence, "Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains", *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(1), S51-S54 (2011).
 34. F. Moumene, F. Benali-Toumi, M. Benabderrahman, A. Benyamina, H. Selem and M. M. Dif, "Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Allium vineale* and *Allium sativum* of west Algerian", *Phytother Res*, 14, 170–175 (2016).
 35. S. Casella, M. Leonardi, B. Melai, F. Fratini and L. Pistelli, "The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L", *Phytother Res*, 27(3), 380-383 (2013).
 36. O. Herrera-Calderon, L. J. Chacaltana-Ramos, I. C. Huayanca-Gutiérrez, M. A. Algarni, M. Alqarni and G. E. S. Batiha, "Chemical constituents, in vitro antioxidant activity and in silico study on NADPH oxidase of *Allium sativum* L. (garlic) essential oil", *Antioxidants*, 10(11), 1844 (2021).
 37. P. Satyal, J. D. Craft, N. S. Dosoky and W. N. Setzer, "The chemical compositions of the volatile oils of garlic (*Allium sativum*) and wild garlic (*Allium vineale*)", *Foods*, 6(8), 63 (2017).
 38. S. Khadri, N. Boutefnouchet and M. Dekhil, "Antibacterial activity evaluation of *Allium sativum* essential oil compared to different *Pseudomonas aeruginosa* strains in eastern Algeria", *Scientific Study & Research: Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 11(4), 421-428 (2010).
 39. S. Khan, S. Das, N. Malik and S. A. Bhat, "Antioxidant properties of garlic essential oil and its use as a natural preservative in processed food", *Int J Chem Stud*, 5(6), 813-821 (2017).
 40. T. P. C. Ezeorba, K. I. Chukwudozie, C. A. Ezema, E. G. Anaduaka, E. J. Nweze and E. S. Okeke, "Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and future prospects", *Pharmacol Res – Mod Chin*, 3, 100075 (2022).
 41. S. F. Mirahmadi, R. Norouzi, M. Ghorbani Nohooji, "The Influence of drying treatments on the essential oil content and composition of *Melissa officinalis* L. compared with the fresh sample", *J Medicinal Plants*, 16(61), 68-78 (2017).
 42. S. Sommano¹, N. Saratan, R. Suksathan and T. Pusadee, "Chemical composition and comparison of genetic variation of commonly available Thai garlic used as food supplement", *J Appl Bot Food Qual*, 89, 235–242 (2016).
 43. F. M. C. Ndoye Foe, T. F. K. Tchinang, A. M. Nyegue, J. P. Abdou, A. J. G. Yaya, A. T. Tchinda, J. O. Essame and F. X. Etoa, "Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon", *BMC Part of Springer Nature*, 16(1), 1-12 (2016).
 44. A. J. Akinyemi, L. Faboya, A. Awonegan, I. Olayide, S. Anadozie and T. Oluwasola, "Antioxidant and anti-Acetylcholinesterase activities of essential oils from garlic (*Allium sativum*) Bulbs", *Int J Plant Res*, 31(2), (2018).
 45. A. D. R. Dewi, J. Kusnadi and W-L. Shih, "Comparison of the Main Bioactive Compounds and Antioxidant Activity from Garlic Water-soluble and Garlic Oil", *KnE Life Sci*, 3(5), 20-34 (2017).
 46. R. Amorati, M. C. Foti and L. Valgimigli, "Antioxidant activity of essential oils", *J Agric Food Chem*, 61(46), 10835-10847 (2013).
 47. R. Amorati, and G. F. Pedulli, "Do garlic-derived allyl sulfides scavenge peroxyl

- radicals?", *Org Biomol Chem*, 6, 1103–1107 (2008).
48. A. P. Magiorakos, A. Srinivasan, R. B. Carey, Y. Carmeli, M. E. Falagas, C. G. Giske, S. Harbarth, J. F. Hindler, G. Kahlmeter, B. Olsson-Liljequist, D. L. Paterson, L. B. Rice, J. Stelling, M. J. Struelens, A. Vatopoulos, J. T. Weber and D. L. Monnet, "Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance", *Clin Microbiol Infect*, 18, 268–281 (2012).
 49. Z. Chekroud, H. Silini, S. Khalfi and Y. Redjem, "Contribution to the Evaluation of Antibacterial Activity of *Allium sativum* L. (Garlic) Essential Oil and Fresh Juice", *Int J Phys Sci*, 5(2), 42-50 (2019).
 50. R. Zouari Chekki, A. Snoussi, I. Hamrouni, N. Bouzouita, Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract", *Mediterr J Chem*, 3(4), 947-956 (2014).
 51. D. A. Pratama and S. Perangin-angin, "Isolation and Analysis of Chemical Components of Garlic (*Allium sativum* L.) Tuber Essential Oil As Well As Antibacterial and Antioxidant Activity Tests", *J of Chem Nat Resour*, 4(1), 18 – 27 (2022).
 52. N. Benkeblia, "Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*)", *LWT - Food Sci. Technol*, 37(2), 263-268 (2004).



نشرة العلوم الصيدلانية جامعة أسيوط



عنوان التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي للزيت الأساسي من نبات الثوم ضد بكتيريا ذات المقاومة المتعددة للأدوية معزولة من تجويف الفم المتأثر بالتسوس

ولد عامر إيمان^{٢٠١} - سلس سيدي محمد عمار^{٤٠٣*} - لعرج حسين^١ - دلمي بوراس عبد القادر^٥ -
قداري يمينة^{٦٠٣}

- ^١ كلية علوم الحياة والطبيعة، جامعة تيارت، تيارت ١٤٠٠٠، الجزائر
^٢ مختبر التكنولوجيا الحيوية الزراعية والتغذية في المناطق شبه الجافة، جامعة تيارت، تيارت ١٤٠٠٠، الجزائر
^٣ مختبر البحث في المنتجات الحيوانية المحلية، جامعة تيارت، تيارت ١٤٠٠٠، الجزائر
^٤ معهد العلوم البيطرية، جامعة تيارت، تيارت ١٤٠٠٠، الجزائر
^٥ مختبر المصادر الحيوية الطبيعية، جامعة الشلف حسيبة بن بوعلي، الشلف ٢٠٠٠، الجزائر
^٦ مختبر تكاثر حيوانات المزرعة - جامعة تيارت - الجزائر

أثبتت العلاجات الطبيعية أنها فعالة جدًا ولها آثار جانبية أقل من المضادات الحيوية التجارية. كانت أهداف هذا العمل تحديد المركبات الكيميائية والأدوية البيولوجية (المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة). للزيت العطري *Allium sativum L* تجاه ثلاث سلالات من البكتيريا موجبة الجرام معزولة من تجويف الفم المصابة بالتسوس وهي *Aerococcus viridans* و *Staphylococcus epidermidis* و *Staphylococcus xylosum*. استخلصت الزيت الأساسي بطريقة التقطير المائي. تم تحديد التركيب الكيميائي لهذه الزيت بواسطة كروماتوغرافيا الغاز المدمج مع المطيافية الكتلية و كروماتوغرافيا الغاز المدمج مع كاشف التآين باللهب بينما تم دراسة النشاط المضاد للأكسدة بواسطة القوة الاختزالية وطريقة DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) تم إجراء اختبار الحساسية لمضادات الميكروبات والنشاط المضاد للميكروبات للزيت الأساسي للبكتيريا المختبرة بطريقة نشر القرص. بلغ مردود استخلاص الزيت الأساسي $0,173 \pm 0,009\%$ (وزن/وزن). كانت جميع السلالات المختبرة مقاومة لثلاث فئات مختلف من المضادات الحيوية. اثنان وأربعون مكونا تم تحديدها وقياسها كميًا. كان ثنائي كبريتيد ثنائي الأليل وم^{١٤٦} = هو المركب الرئيسي للزيت الأساسي الذي تمت دراسته (٣٩,٢٢%) يليه ثلاثي كبريتيد ثنائي الأليل وم^(٣٤,٨٥%) = ١٧٨. أظهر نشاط مضادات الأكسدة بواسطة مقايضة DPPH قيمة متوسطة التركيز المثبط (IC50) تبلغ $51,12 \pm 11,77$ مجم / مل، بينما أعطى اختبار قدرة الاختزال الحديدي قيمة متوسطة التركيز الفعال (EC50) تبلغ $6,54 \pm 0,63$ مجم / مل. أظهرت النتائج أن جميع السلالات البكتيرية متعددة المقاومة التي تم اختبارها حساسة للزيوت الأساسية. تشير النتائج إلى أن الزيت العطري *Allium sativum L* يمارس نشاطًا جيدًا مضادًا للبكتيريا في المختبر بينما كان ضعيفًا إلى متوسط بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة في المختبر.

CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF ALLIUM SATIVUM L. ESSENTIAL OIL AGAINST MDR BACTERIA ISOLATED FROM BUCCAL CAVITY AFFECTED BY CARIES

Ould Amer Imane^{1,2}, Selles Sidi Mohammed Ammar^{3,4*}, Laaredj Hocine¹, Dilmi Bouras Abdelkader⁵ and Kadari Yamina^{4,6}

Lien de l'article

https://bpsa.journals.ekb.eg/article_327628_631c2e5532d2799a8a877acc263d6f7f.pdf



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Thèse de Doctorat

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat L.M.D

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie Alimentaire

Présentée par :

OULD AMER Imane

Thème

**Effet de l'ail « *Allium sativum* L. » sur la flore
buccale**

Soutenu publiquement le 22 / 02 /2024

Devant le jury :

M ^{me} MIHOUB Fatma	Présidente	Professeur	Université de Tiaret
M. BELHAMITI Belkacem Tahar	Examineur	MCA	Université de Tiaret
M. ZIANI Kaddour	Examineur	Professeur	Université de Saida
M. ADLI Djallal Eddine	Examineur	Professeur	Université de Saida
M. SELLES Sidi Mohammed Ammar	Directeur de thèse	MCA	Université de Tiaret
M. HOCINE Laaredj	Co-Directeur de thèse	MCA	Université de Tiaret

Année universitaire : 2023-2024